

Heterologe Schweineleberperfusion

Experimentelle Untersuchungen und klinische Anwendung

von

Dr. Konrad Schwemmler

1971

1971 # 250

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. G. Hegemann

Heterologe Schweineleberperfusion

Experimentelle Untersuchungen und klinische Anwendung

Der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
als Habilitationsschrift

vorgelegt

von

Dr. Konrad Schwemmle

1971

Heterologe Schwanzimplantation
Experimentelle Untersuchungen und klinische Anwendung



Tag der Habilitation: 15. 7. 1971

Disposition	Seite
A) Einleitung	1
B) Experimentelle Untersuchungen	2
1. Versuchstiere	2
2. Entnahme der Leber	2
3. Spülung der isolierten Leber	3
4. Perfusion	4
5. Untersuchungen	9
a) Blutgasanalysen	
b) Hämoglobin, Hämatokrit und Erythrozytenzahl	
c) Partielle Thromboplastinzeit, Prothrombin-Bestimmung	
d) G-6-PDH, α -HBDH	
e) GPT, GOT, LDH, ICDH, alk. Phosphatase Cholinesterase	
f) Harnstoff-N und Ammoniak	
g) Galleausscheidung	
h) Cholesterin und Bilirubin im Serum und in der Galle	
i) Histologische Untersuchungen	
k) Untersuchungen nach O ₂ -Mangel und Vergiftung	
6. Ergebnisse	11
a) Sauerstoffverbrauch	11
b) Hämatologische Veränderungen	14
c) Gerinnungsphysiologische Änderungen	16
d) Verhalten der Erythrozytenfermente	19
e) Untersuchungen der leberspezifischen Fermente	22
f) Veränderungen des Ammoniakspiegels und des Harnstoff-N, Ammoniakbelastung	27
g) Galleausscheidung, Bilirubin- und Cholesteringehalt in der Galle und im Perfusionsblut	30
h) Histologische Veränderungen	32

	Seite
7. Diskussion	35
a) Sauerstoffverbrauch der perfundierten Leber	35
b) Erythrozytenschädigung und Veränderungen im Gerinnungssystem	35
c) Schädigung der perfundierten Leber	37
d) Galleausscheidung	38
e) Die Ammoniakbelastung	39
f) Beurteilung der Leberfunktion	41
C) Klinische Anwendung	41
1. Möglichkeiten des Leberersatzes	41
a) Hämodialyse	42
b) Reduzierung des Ammoniaks mit Austauschharz	42
c) Hypothermie	42
d) Kreuzzirkulation	43
e) Austauschtransfusion	43
f) Hilfsleber	43
g) Transplantation	44
h) Heterologe Leberperfusion	44
2. Kasuistik	44
3. Perfusionstechnik	47
4. Ergebnisse	48
a) Sauerstoffverbrauch	48
b) Blutchemische Veränderungen	49
c) Galleausscheidung	53
5. Besprechung	53
6. Indikation der heterologen Schweineleberperfusion	56
D) Zusammenfassung	

Literaturverzeichnis

A. EINLEITUNG

Seitdem Otto und Mitarbeiter 1958 erkannt haben, daß im Tierexperiment durch eine extrakorporale Leberperfusion ein erhöhter Ammoniakspiegel gesenkt werden kann (83), haben sich zahlreiche Untersucher mit der Leberperfusion beschäftigt, (13, 19, 24, 27, 39, 40, 41, 51, 78, 79, 80, 106, 110, 111). Eiseman (42), Boeckl (15, 16) und andere (35, 70, 81, 84, 85, 91, 107) haben gezeigt, daß bei Perfusion von Tierlebern mit menschlichem Blut wichtige Leberfunktionen erhalten bleiben. Auch menschliche Kadaverlebern wurden perfundiert (32, 40, 41, 90).

Man konnte nachweisen, daß eine mit oxygenisiertem Blut durchströmte Leber für mehrere Stunden funktionstüchtig bleibt. Als Beweis hierfür dienen erhaltene Galleausscheidung (7, 15-18, 35, 70, 83 u.a.), Eiweißsynthese (5, 69), Ammoniakabbau (15, 40, 115) und Ausscheidung von Farbstoffen wie Bromthalein (6, 13, 15, 18, 19, 35, 49, 83, 106), Bengalrosa (15, 18, 74), Azorubin S (97) und Indocyanin-Grün (74). Es war dann eine logische Weiterentwicklung, die heterologe Leberperfusion bei Patienten mit Leberkoma zu versuchen.

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über experimentelle Untersuchungen mit der heterologen Schweineleberperfusion und deren klinische Anwendung. Es interessierte uns vor allem, ob und in welchem Grad Leber und Perfusionsblut durch die Perfusion geschädigt werden. Außerdem prüften wir, inwieweit die Leber nach vorübergehendem Sauerstoffmangel und Allylformiat noch funktionstüchtig bleibt. Bei vier Patienten haben wir die Schweineleberperfusion auch klinisch angewandt.

B. EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

1. Versuchstiere

Es wurden 37 Schweine (15 Zwergschweine, 22 Haus-
schweine) mit einem durchschnittlichen Gewicht von
23 kg verwendet. Die Tiere erhielten 12 Stunden
vor dem Versuch keine feste Nahrung mehr. Das Le-
bergewicht schwankte zwischen 410 g und 950 g (im
Mittel 610 g).

2. Entnahme der Leber

Nach Einleitung der Narkose mit Aether wurde eine
Infusion über eine Ohrvene gelegt und die Narkose
mit 250 - 500 mg Trapanal je nach Gewicht der
Tiere weitergeführt. Außerdem erhielten die Schwe-
ine 0,5 g Ampicillin und 20 - 60 mval Natrium-Bi-
karbonat (etwa 1 mval pro kg Körpergewicht). Die
Tiere wurden regelmäßig tracheotomiert, intubiert
und mit einem Pulmomat beatmet. In Rückenlage
wurde die Bauchhaut rasiert, sorgfältig gereinigt
und mit Kodanlösung desinfiziert. Als Zugang wähl-
ten wir einen großen rechtsseitigen Rippenbogen-
randschnitt. Pfortader und Choledochus wurden im
Ligamentum hepato duodenale isoliert. Da die Ar-
teria hepatica in der Leberpforte ein dünnes Lumen
aufweist und sich schon außerhalb der Leber auf-
zweigt, legten wir sie nahe der Aorta frei. Die
Blutgefäße wurden nur dargestellt, aber nicht ange-
schlungen, um eine maximale Durchblutung der Leber
während des Eingriffes zu erhalten. Aus dem glei-
chen Grund haben wir den Dünndarm nicht eventeriert
(79). Nach Incision des Zwerchfelles wurde der obe-
re Anteil der V. cava inferior und nach Lösung
der Verbindungen zur Leber auch die intrahepati-
sche V. cava inferior isoliert. Nach Injektion von
50 mg Heparin ligierten und durchtrennten wir den

Choledochus möglichst peripher. Anschließend wurden die Pfortader, die Leberarterie, sowie beide Anteile der unteren Hohlvene rasch zwischen Klemmen durchtrennt und die Leber entfernt. Nach luftblasenfreier Kanülierung der Pfortader und nach Abnehmen der Klemmen an den beiden Cavastümpfen konnte sofort mit der Spülperfusion begonnen werden. Erst danach wurde die Arterie kanüliert und ebenfalls durchströmt.

Wir verwendeten für die Perfusion mit Ausnahme eines Versuches (nur Pfortader) A. hepatica und V. portae, da mit dieser Versuchsanordnung die günstigsten Voraussetzungen bestehen (35, 110). Für die Galleableitung wurde auch in den Choledochus ein Schlauch eingebunden, der Ductus cysticus wurde ligiert, um ein Nachfließen von Galle aus der Gallenblase zu vermeiden. Die Operation dauerte vom Hautschnitt bis zur Leberentnahme nach einiger Erfahrung etwa 25 - 30 Min.

Wenn eine autologe Perfusion vorgesehen war oder wenn Blut für eine homologe Perfusion benötigt wurde, haben wir die Leber erst entfernt, nachdem über eine Aortenpunktion mit einer Vakuumflasche (mit Heparin-freiem ACD-Stabilisator) etwa 900 - 1000 ml Blut bei rasch laufender Infusion abgenommen worden waren. Man gewinnt nicht genügend Blut, wenn man die Leber vorher entnimmt, da der venöse Rückstrom zum Herzen nach Durchtrennung der V. cava inferior zu stark beeinträchtigt wird.

3. Spülung der isolierten Leber

Zwischen Abklemmen der zuführenden Lebergefäße und dem Beginn der Spülung über die Pfortader vergingen etwa 1 - 2 Minuten. Wir verwendeten 8-12 Grad kalte (13, 42), physiologische Kochsalzlösung (15).

Die Spülung wurde solange fortgesetzt, bis die auslaufende Flüssigkeit klar blieb und die Leber ihre hellbraune Eigenfarbe aufwies. (Abb. 1)

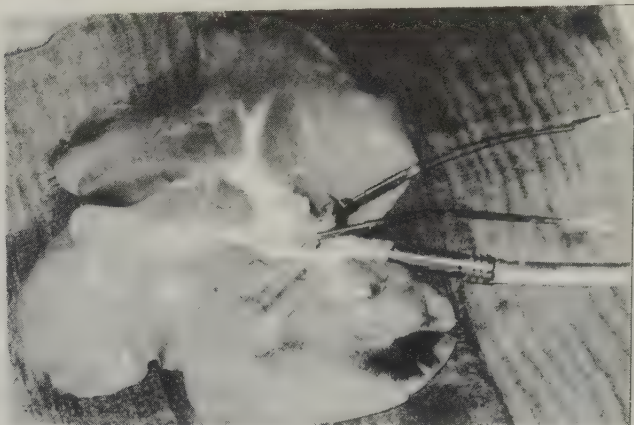


Abb. 1: Schweineleber nach der Spülperfusion

Um möglichst alle Kapillaren zu eröffnen, wurden die beiden Cavastümpfe intermittierend abgeklemmt (80). Es waren etwa 5000 ml heparinisierte (20 mg Heparin/Liter) NaCl-Lösung erforderlich. Die Spülung wurde mit 1000 ml Dextran-Lösung (Neosubsidal) abgeschlossen. Um das Heparin weitgehend zu entfernen, enthielt die Dextran-Lösung kein Heparin mehr, da die Bestimmung von Prothrombin und partieller Thromboplastinzeit sonst zu sehr gestört wird.

4. Perfusion

Nach Beendigung der Spülung wurde die Leber an den vorbereiteten Perfusionskreislauf angeschlossen. (Abb. 2 und 3)

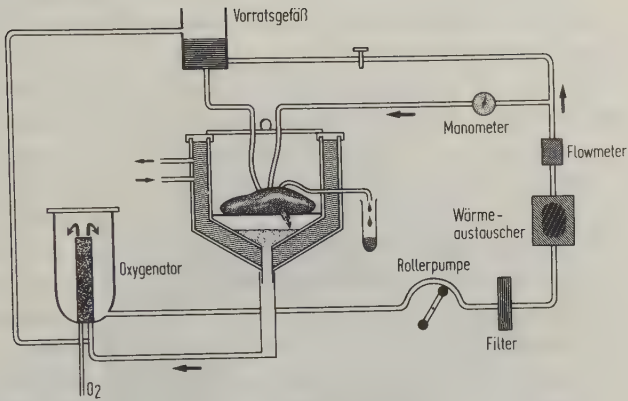


Abb. 2: Kreislauf der Leberperfusion

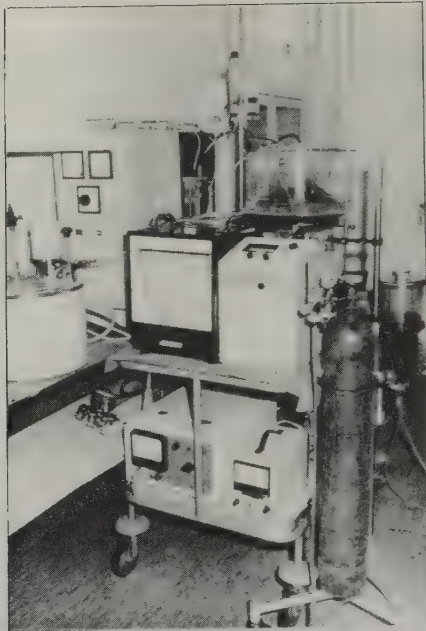


Abb. 3: Versuchsanordnung.

In der oberen Reihe von links nach rechts
Thermostat, Wärmeaustauscher, Kompensations-
schreiber für die Temperaturmessung, Roller-
pumpe.

Untere Reihe: Druckmessgerät, Flowmeter.
Hinter der Sauerstoffflasche ist der Oxygenator
erkennbar.

Wir konstruierten eine doppelwandige Perfusionskammer aus Plexiglas, wobei die Schläuche für die V. portae und die A. hepatica durch Bohrungen im Deckel geleitet werden. Die Galle kann über eine seitliche Durchführung gesammelt werden. In der Wand der Kammer strömt erwärmtes Wasser mit einer von einem Thermostaten regulierten Temperatur von 40° . Das Blut aus der Leber fließt aus den beiden Stümpfen der unteren Hohlvene in das darunterliegende Reservoir und von hier aus in einen Bubble-Oxygenator. Der von der Leberoberfläche abtropfende Ascites wird bei dieser Versuchsanordnung in den Kreislauf zurückgeleitet. Dies ist auch bei klinischen Perfusionen möglich (36), da der Ascites eine dem Patientenserum ähnliche Zusammensetzung aufweist und nur kleine Mengen Schweineprotein enthält (80). Das mit Sauerstoff angereicherte Blut wird mit einer Rollerpumpe über einen Gerinnselfänger zu einem nach dem Peltier-Prinzip konstruierten Wärmeaustauscher (34) geleitet. Wir haben den Flow mit einem elektromagnetischen Flußmesser fortlaufend bestimmt und auf etwa 1 ml/g Lebergewicht/min. eingestellt, da mit dieser Menge die günstigsten Ergebnisse erzielt werden (35, 53). Die V. portae wird über ein Vorratsgefäß mit einem hydrostatischen Druck von 30 - 35 cm H_2O durchströmt. Der Druck in der A. hepatica kann mit der Schlauchklemme vor dem Vorratsgefäß auf 120 - 150 mmHg einreguliert und mit einem Druckumwandler (Statham) über ein Anzeigegerät fortlaufend gemessen werden. Nach jeweils einer halben Drehung der Rollerpumpe sank der Druck auf etwa 100 mmHg ab, sodaß eine annähernd pulsatile Durchströmung resultierte. Die Perfusionskammer, das gesamte Schlauchsystem und alle anderen Teile, die in unmittelbarem Kontakt mit dem Blut stehen, wurden mit Äthylen-Oxyd sterilisiert. Schläuche wurden nur einmal verwen-

det. Da dennoch bei einem Kontrollversuch der Ammoniakspiegel wahrscheinlich wegen bakterieller Verunreinigung etwas anstieg (Abb. 4), haben wir dem Perfusionskreislauf regelmäßig ein Antibioticum (0,5 g Ampicillin) zugesetzt.

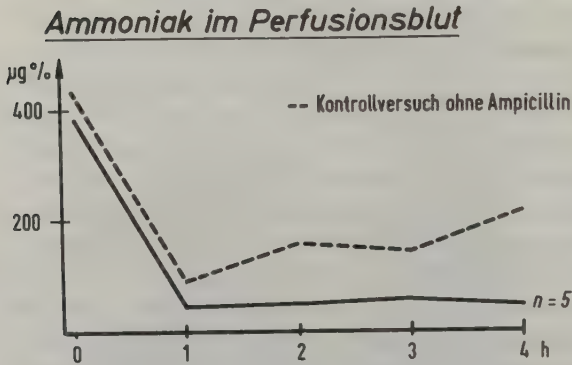


Abb. 4

Zu Beginn der Perfusion wurden außerdem etwa 20 mval NaHCO_3 zum Ausgleich der Azidose zugegeben, da diese den Gefäßwiderstand in der Leber erhöht (41, 78, 79). Der pH der Perfusionslösung wurde in regelmäßigen Abständen gemessen und auf 7,4 eingestellt, wobei je nach Bedarf noch kleine Mengen NaHCO_3 nachgegeben werden mußten. Mit elektrischen Thermometern wurde die Lebertemperatur und die Temperatur des Perfusionsblutes vor dem Heat-Exchanger und im portalen Vorratsgefäß laufend gemessen und über einen Kompensationsschreiber ausgedruckt.

Spätestens nach 30 Minuten, meist früher, hatte die Leber die gewünschte Temperatur von 38° (41, 106) erreicht.

Für die Füllung des Perfusionskreislaufes verwendeten wir bei heterologen Perfusionen 1000 ml menschliches Konservenblut, in einigen Fällen auch Erythrozytenkonzentrate und Aderlaßblut. Wir konnten nur auf Konserven zurückgreifen, die wegen ihres Alters (20 Tage) oder eines erhöhten GPT- oder GOT-Gehaltes für Transfusionen nicht geeignet waren. Das Blut wurde mit 300 ml Dextranlösung (Neosubsidal) verdünnt, sodaß etwa 1300 ml Perfusionsflüssigkeit zirkulierten. Neben 30 heterologen Schweineleberperfusionen haben wir zum Vergleich auch vier autologe und drei homologe Perfusionen durchgeführt. Auf Unterschiede bei den verschiedenen Perfusionen haben Boeckl und Mitarbeiter hingewiesen (15, 118). Die Einzelperfusion dauerte 3 - 4 Stunden.

5. Untersuchungen

a) Blutgasanalysen

Es wurden in halbstündigen Abständen die arterielle und venöse Sauerstoffsättigung sowie der arterielle und venöse Sauerstoffpartialdruck gemessen.

b) Haemoglobin, Haematokrit und Erythrozytenzahl wurden stündlich bestimmt.

c) Zur Beurteilung des Gerinnungssystems wurden die Thrombozyten gezählt und die partielle Thrombinzeit sowie der Prothrombinwert (jeweils ausgedrückt in % der Norm) gemessen.

d) Zur Beurteilung der Erythrozytenschädigung bestimmten wir stündlich die Konzentrationen des nur in den Erythrozyten vorkommenden LDH-1-Isoenzyms Alpha-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (α -HBDH) und die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH), ein Ferment, welches in den Erythrozyten in wesentlich höherer Konzentration vorhanden ist, als in der Leber.

e) An Leberfermenten wurden gemessen die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), die Laktat-Dehydrogenase (LDH, die Isocitrat-Dehydrogenase (ICDH), die alkalische Phosphatase und die Cholinesterase.

f) Harnstoffstickstoff und Ammoniak wurden ebenfalls stündlich bestimmt. Bei Belastung mit Ammoniumzitrat wurde der Ammoniakspiegel außerdem 5, 10, 15 und 30 Min. nach Zugabe gemessen. Ammoniak wurde nach Adsorption mit einem Ionen-Austauscherharz (Resin) kolorimetrisch mit der Phenol-Hypochlorit-Methode bestimmt (47, 56, 75).

g) Die Galle-Ausscheidung wurde stündlich gemessen.

h) Cholesterin und Bilirubin wurden im Perfusionsblut und in der sezernierten Galle bestimmt.

i) Vor der Leberentnahme, nach der Kaltspülung sowie während und nach der Perfusion wurden Probeexzisionen entnommen und HE-gefärbt. Mit der Bestschen Färbung untersuchten wir außerdem den Glykogen-Gehalt der Lebern.

k) Um Auskunft darüber zu erhalten, inwieweit die Leber noch nach bewußter Schädigung Funktionen ausüben kann, haben wir in vier Versuchen die Sauer-

stoffzufuhr unterbrochen (20 und 30 Min.). Einmal wurde die Leber im bereits verstorbenen Spenderschwein belassen und erst nach 30 Minuten entnommen. In 5 Versuchen vergifteten wir die Leber 5 - 15 Min. mit Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) und in drei Versuchen 5 - 10 Min. mit Allylformiat. Diese leichtflüchtigen, toxischen Substanzen wurden in die für die Anfeuchtung des Sauerstoffs bestimmte Waschflasche am Sauerstoffgerät eingefüllt, mit Sauerstoff durchströmt und dem Oxygenator zugeführt.

6. Ergebnisse

Die Sauerstoffsättigung im arteriellen Anteil des Perfusionssystems lag bei 100 % oder nur geringfügig darunter (Abb. 5). Die dem Oxygenator angebotene Sauerstoffmenge von 1,5 l/Min. genügte also bei einer Durchflußmenge von etwa 600 - 800 ccm für eine ausreichende Oxygenisierung des Blutes. Die venöse Sättigung war mit durchschnittlich 80 % wesentlich geringer.

O₂ - Sättigung während Leberperfusion

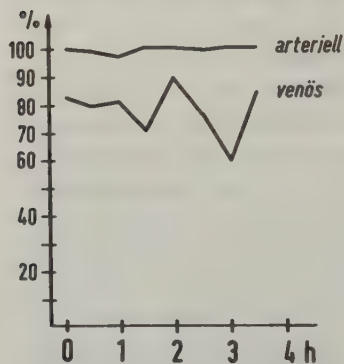


Abb. 5 n = 11

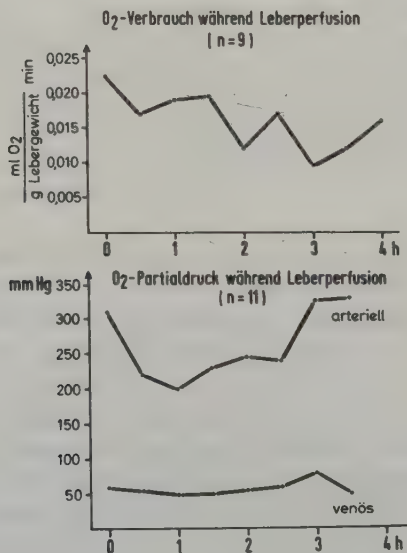


Abb. 6

**Partialdruck, Sättigung
und Verbrauch von
Sauerstoff nach
Vergiftung (↓)
mit CCl_4 (n=2)**

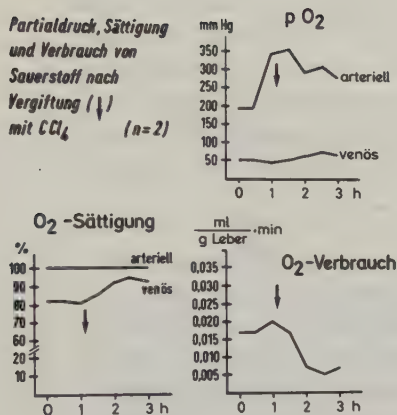


Abb. 7

**Partialdruck, Sättigung
und Verbrauch von O₂
nach Vergiftung (↓)
mit Allylformiat
(n=2)**

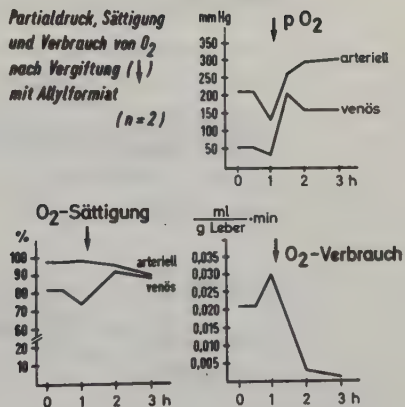


Abb. 8

Der Sauerstoffverbrauch wurde aus arterio-venöser Sättigungsdifferenz, Haemoglobin-Gehalt, Durchflußmenge und Lebergewicht berechnet. Er lag bei Beginn der Perfusion bei 0,023 ml/g Lebergewicht/min. und hatte während der Perfusion eine absteigende Tendenz (Abb. 6). Nach Vergiftung der Leber mit CCl_4 stieg die venöse Sauerstoffsättigung stark an und dementsprechend sank der Sauerstoffverbrauch der Leber (Abb. 7).

Noch deutlicher sind die Veränderungen nach Vergiftung mit Allylformiat (Abb. 8). Neben dem Anstieg der venösen O_2 -Sättigung und des venösen pO_2 fällt jetzt auch ein Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung auf. Als Beweis für eine globale Schädigung des Leberparenchyms sinkt der Sauerstoffverbrauch auf fast null ab.

b) Haematologische Veränderungen

Die Erythrozyten nahmen während 4-stündiger Perfusion von 3,51 Mill. auf 2,26 Mill. ab. Während in den ersten drei Stunden der Rückgang der Erythrozytenzahl allmählich erfolgte, war der Abfall in der letzten Stunde deutlicher (Abb. 9). Haemoglobin und Haematokrit verhielten sich gleichsinnig.

Hämoglobin, Erythrozyten und Hämatokrit
während Perfusion (n=21)

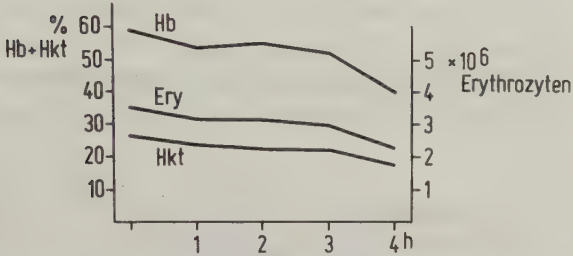


Abb. 9

Die Unterbrechung der Sauerstoffzufuhr hatte auf die Erythrozytenanzahl keinen wesentlichen Einfluß (Abb. 10).

**Änderung der Erythrozytenanzahl nach Vergiftung
und O₂ - Mangel**

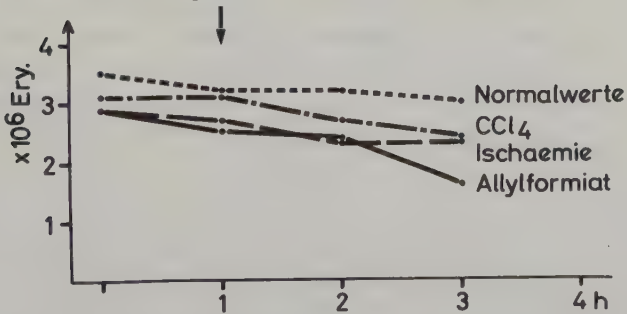


Abb. 10

Nach CCl_4 und vor allem nach Allylformiat war ein etwas stärkerer Erythrozytenabfall festzustellen.

c) Gerinnungsphysiologische Änderungen

Da wir fast immer ältere Blutkonserven für die heterologe Perfusion verwendet haben, sind die Thrombozytenzahlen wesentlich geringer als bei den autologen und homologen Perfusionen (Abb. 11).

Thrombozyten bei autologer, homologer und heterologer Perfusion

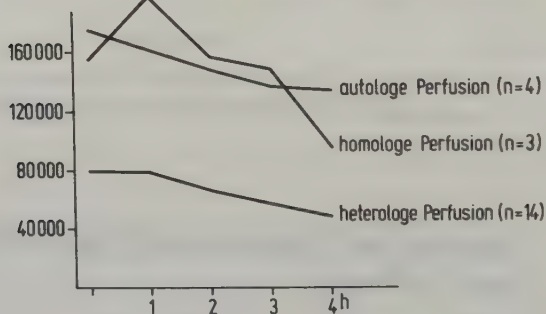


Abb. 11

Es war immer ein konstanter Abfall der Thrombozyten während des Versuchs festzustellen (Abb. 12).

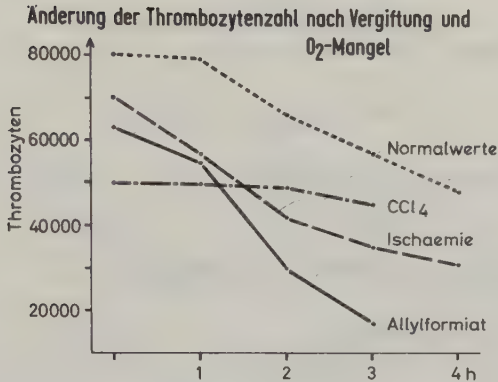


Abb. 12

Prothrombin und partielle Thromboplastinzeit zeigten dagegen während der Perfusion eine ansteigende Tendenz, wobei der Anstieg nach vier Stunden, beim Prothrombin auch nach drei Stunden gegenüber den Ausgangswerten signifikant war. (Abb. 13)

Prothrombin + partielle Thrombinzeit
(in % der Norm) (PTZ)

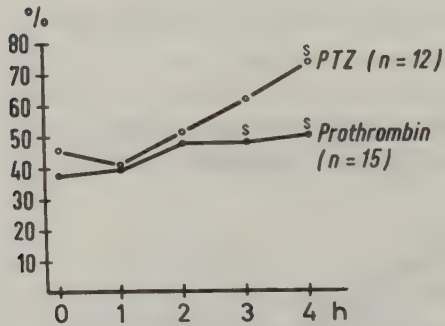


Abb. 13: (s=signifikant, p 0,05)

Auch nach vorübergehendem Sauerstoffentzug stiegen Prothrombin und PTZ noch an (Abb. 14), während nach Vergiftung mit CCl_4 ein geringer und nach Allylformiat ein sehr starker Abfall registriert werden konnte.

Änderung v. Prothrombin u. partieller Thrombinzeit (PTZ) nach Ischaemie u. Vergiftung

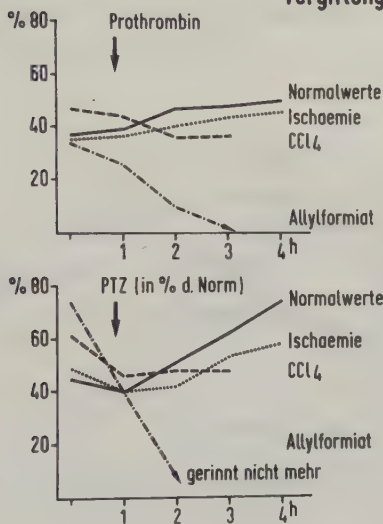


Abb. 14

d) Verhalten der Erythrozytenfermente

Der Anstieg der α -HBDH und der G-6-PDH ist Ausdruck einer erheblichen Haemolyse im Perfusionssystem. Der Anstieg war bei einem orientierenden Leerversuch ohne Leber, aber unter sonst gleichen Bedingungen wesentlich geringer (Abb. 15 und 16).

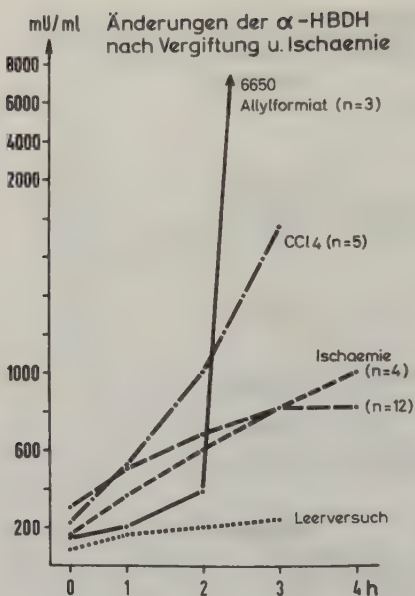


Abb. 15

Der Anstieg der Normalwerte ($n=12$) nach 2^h , 3^h , und 4^h ist signifikant ($p < 0,01$). Vergiftung bzw. Ischämie nach der 1. Perfusionsstunde.

Änderungen von G-6-PDH nach Vergiftung und Ischaemie

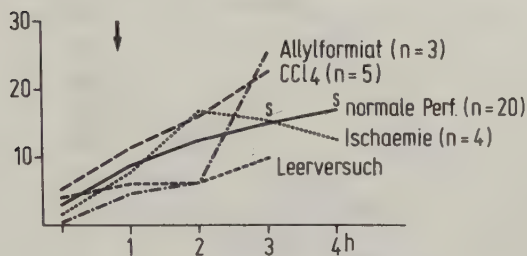


Abb. 16 (s = signifikant , $p < 0,001$)

Nach Ischämie war der Anstieg bei der α -HBDH etwas stärker ausgeprägt, während bei der G-6-PDH der steilere Anstieg nach der zweiten Stunde von einem geringen Abfall gefolgt war. Nach CCl₄, vor allem nach Allylformiat war die Haemolyse besonders ausgeprägt mit einem entsprechenden Anstieg beider Fermente.

Änderungen von LDH, GOT und GPT
während Leberperfusion

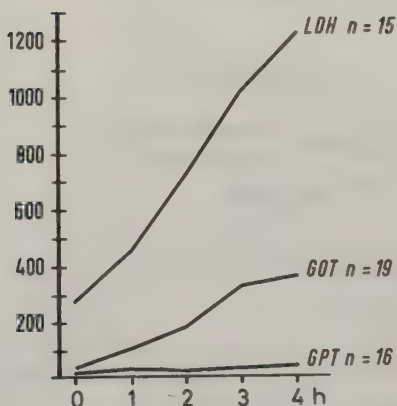


Abb. 17

e) Untersuchungen der leberspezifischen Fermente

Das Verhalten der LDH, der GOT und der GPT zeigt Abb. 17. Während vierstündiger Perfusion steigt die GOT von 25 auf 357 I.E., GPT von 8,3 auf 29,6 I.E. Der ausgeprägte Anstieg der LDH ist allerdings zum größten Teil nicht durch die Isoenzyme der Leber, sondern durch das aus den Erythrozyten freiwerdende LDH-1-Isoenzym α -HBDH verursacht.

LDH und das LDH -Isoenzym α -HBDH
während Leberperfusion

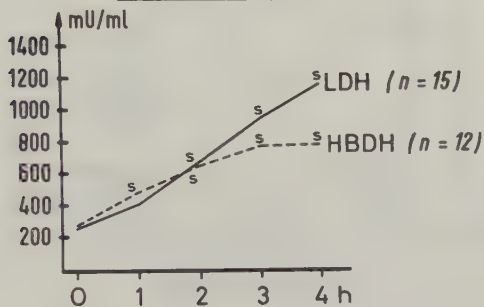


Abb. 18 (s= signifikant, $p < 0,01$)

Die ICDH steigt ebenfalls stark an, während die alkalische Phosphatase keine wesentlichen Veränderungen zeigt. Die Cholinesterase fällt um die Hälfte ab. Wegen der starken Streuung ist nur der Wert nach vier Perfusionsstunden signifikant niedriger. Die Synthese dieses Ferments, das in der Leber gebildet und an das Blut abgegeben wird, nimmt während einer Perfusion ab (Abb. 19).

Änderungen von ICDH, Cholinesterase und alk. Phosphatase während Leberperfusion

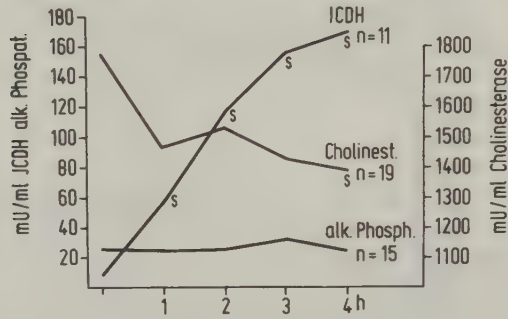


Abb. 19

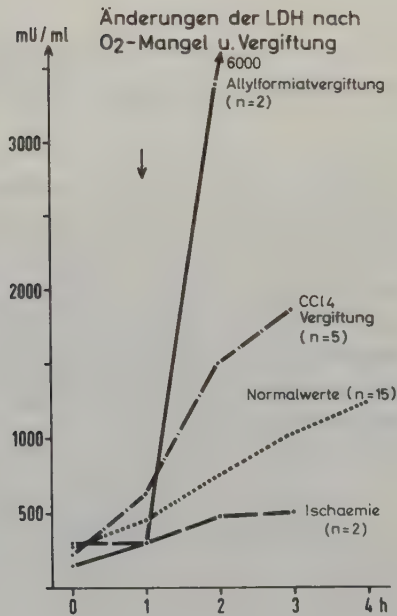


Abb. 20

Änderung der GOT nach O₂-Mangel und Vergiftung

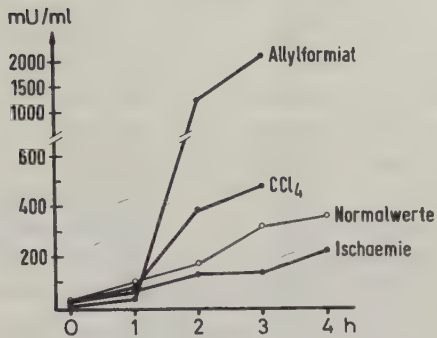


Abb. 21

Vergiftung bzw. Ischämie nach der ersten Perfusionsstunde.

Der Anstieg der LDH nach Vergiftung (Abb. 20) entspricht etwa den Änderungen der α -HBDH (Abb. 15) und dürfte daher in erster Linie durch Schädigung der Erythrozyten bedingt sein.

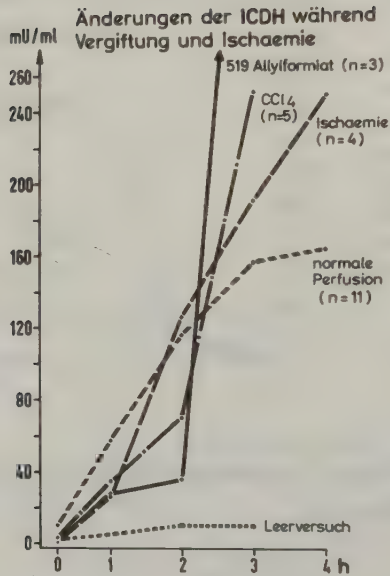


Abb. 22: Vergiftung nach einer
Stunde, Sauerstoffentzug
unmittelbar vor Ende der
ersten Perfusionsstunde.

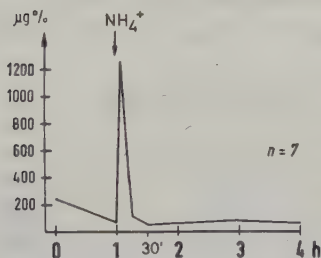
GOT und ICDH steigen nach Vergiftung deutlich an, wobei die Leberzellen nach Allylformiat offenbar wesentlich mehr geschädigt werden, als nach CCl_4 .

f) Veränderung des Ammoniakspiegels und des Harnstoff-N, Ammoniakbelastung

Zu Beginn der Perfusion fanden sich auffallend hohe Ammoniakwerte. Sie betrugen bei Perfusionen mit menschlichem Konservenblut durchschnittlich 609 $\mu\text{g}\%$, bei autologen 128 $\mu\text{g}\%$ und bei homologen Perfusionen 162 $\mu\text{g}\%$. Nach Beginn der Perfusion sanken sie rasch auf normale Werte. Nach Zufuhr von 0,5 g Ammoniumzitrat stieg das Ammoniak zunächst steil an, wurde aber ebenso rasch wieder abgebaut und hatte nach 15, spätestens nach 30 Min. normale Werte wieder erreicht (Abb. 23).

Ebenso rasch wurde Ammoniak auch bei den homologen und autologen Perfusionen metabolisiert.

Ammoniakspiegel nach Belastung
mit 0,5 Ammoniumzitrat



Kontrollversuch ohne Leber

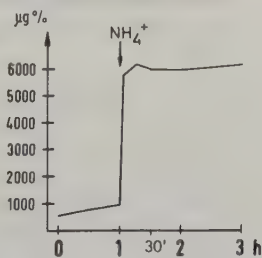


Abb. 23

Die Fähigkeit, Ammoniak zu eliminieren, behält eine perfundierte Leber auch nach vorübergehendem Sauerstoffmangel (Abb. 24) und nach Vergiftung mit CCl_4 (Abb. 25).

Ammoniakbelastung mit 0,5g Ammoniumzitrat nach Ischaemie
(Mittelwert aus 2 Versuchen, 20' und 30' O₂-Mangel)

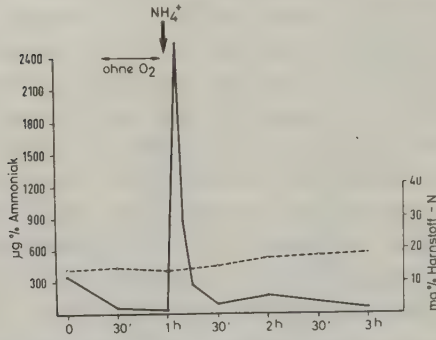


Abb. 24

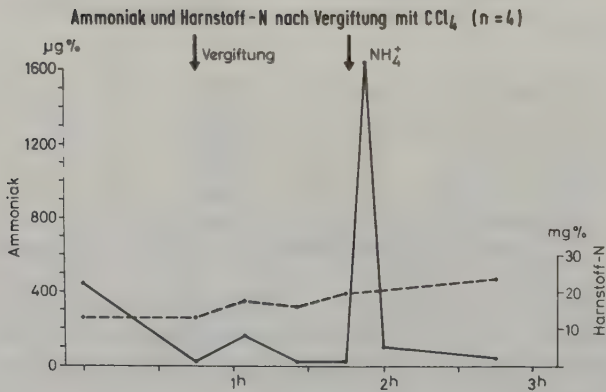


Abb. 25

Etwas verzögert erfolgte der Ammoniakabbau durch eine Leber, die 30 Minuten im toten Spenderschwein verblieben war (Abb. 26).

Ammoniakbelastung bei Leber, die 30' im toten Spenderschwein verblieben war

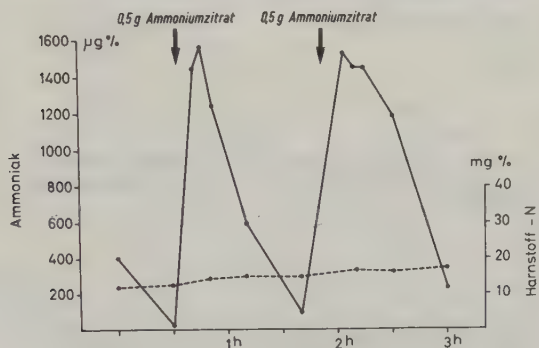


Abb. 26

Nach Vergiftung mit Allylformiat war jedoch ein Ammoniakabbau nicht mehr möglich (Abb. 27).

Ammoniakspiegel nach Vergiftung mit Allylformiat

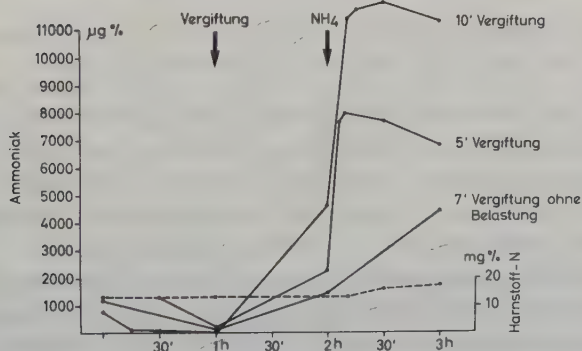


Abb. 27

Der Harnstoff-Stickstoff steigt während einer Perfusion signifikant an (Abb. 28). Nach Zugabe von Ammoniumzitrat ist die Erhöhung noch stärker ausgeprägt.

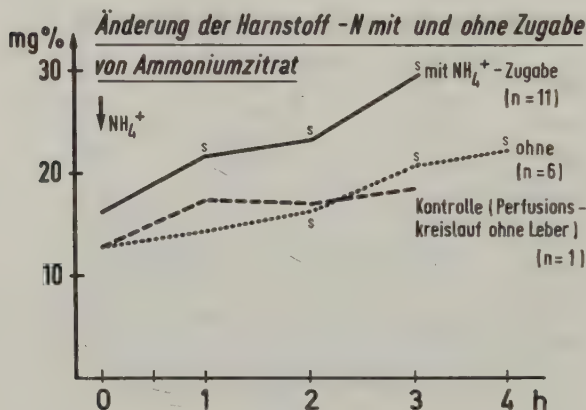


Abb. 28: (s = signifikant, $p < 0,01$)

Die 2 und 3-Stundenwerte von Harnstoff-N mit Zugabe von Ammoniumzitrat liegen signifikant ($p < 0,05$) über den Harnstoff-N-Werten ohne Ammoniumzitrat.

g) Galleausscheidung, Bilirubin und Cholesteringehalt in der Galle und im Perfusionsblut.

Die Galleausscheidung betrug durchschnittlich 2,6 ml/Std. Sie ließ während der Perfusion eine ansteigende Tendenz (Abb. 29) erkennen. Signifikante Unterschiede der einzelnen Stundenportionen waren nicht festzustellen. Im Perfusionsblut lag das Bilirubin immer unter 1,0 mg%. Der Cholesterinwert schwankte zwischen 90 und 120 mg%. In der Galle war dagegen Cholesterin wesentlich höher konzentriert (Abb. 30), wobei eine abfallende Tendenz während der Perfusion zu erkennen ist.

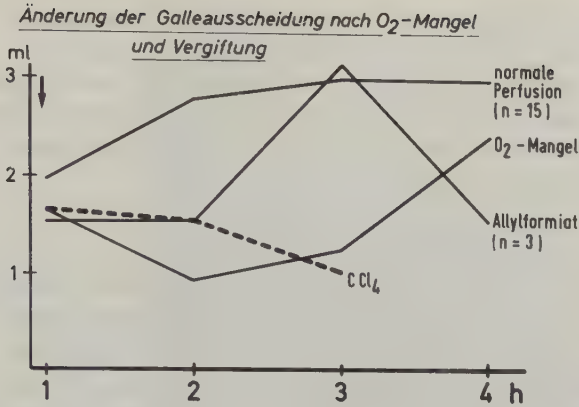


Abb. 29

Bilirubin (n = 17) und Cholesterin (n = 10)
in der ausgeschiedenen Galle

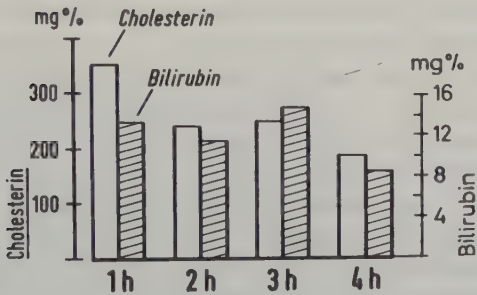


Abb. 30

Die Bilirubinkonzentrationen in der Galleflüssigkeit schwankten von 48,95 mg% bis 0,46 mg% (2 Stunden nach einer Vergiftung mit Allylformiat). Der durchschnittliche Bilirubinspiegel in den

einzelnen Stundenportionen ist in Abb. 30 aufgezichnet. Mit Ausnahme einer auffallend hohen Galleausscheidung 3 Stunden nach Allylformiatvergiftung lagen die Gallemengen nach Vergiftung und Sauerstoffmangel deutlich unter den Normalperfusionsen (Abb. 29).

h) Histologische Veränderungen

Abb. 31 zeigt das histologische Bild einer Schweineleber vor und Abb. 32 nach der Perfusion. Während die Leberzellstruktur nach 4-stündiger Perfusion nicht wesentlich verändert erscheint, sind jetzt viele Erythrozyten nachweisbar, wobei die Befunde recht unterschiedlich sind. Einmal liegen die Erythrozyten vorwiegend innerhalb der Kapillaren, auf anderen Schnitten sind sie zwischen den Leberzellen selbst nachweisbar. Der Glykogen-Gehalt der Leberzellen (Abb. 33) nahm bei einigen Versuchen bereits nach der Durchspülung mit physiologischer Kochsalzlösung ab. Nach der Perfusion war eine deutliche Verarmung an Glykogen vorwiegend in den Zentren der Leberläppchen nachweisbar (Abb. 34). Der Glykogen-Gehalt nahm besonders nach Ischämie und CCl_4 -Vergiftung ab, wobei auch nach Tetrachlorkohlen-Stoff nicht eine periphere, sondern eine zentrale Glykogenminderung sichtbar war. Nach Vergiftung mit Allylformiat änderte sich der Glykogen-Gehalt der Leber nicht. Offenbar wird der intermediäre Stoffwechsel durch dieses Gift so geschädigt, daß die Verwertung der tierischen Stärke erheblich behindert ist.

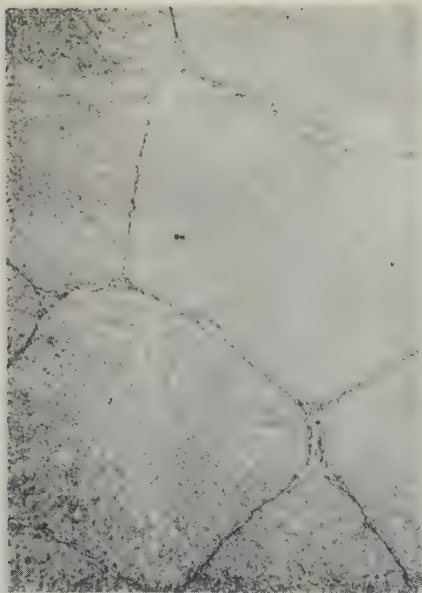


Abb. 31: Schweineleber vor Perfusion

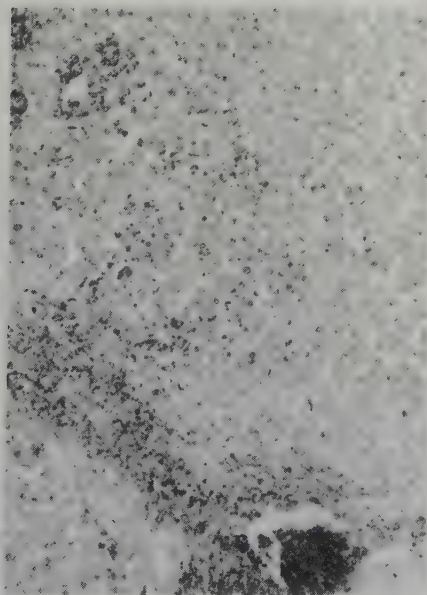


Abb. 32: Schweineleber
nach Perfusion

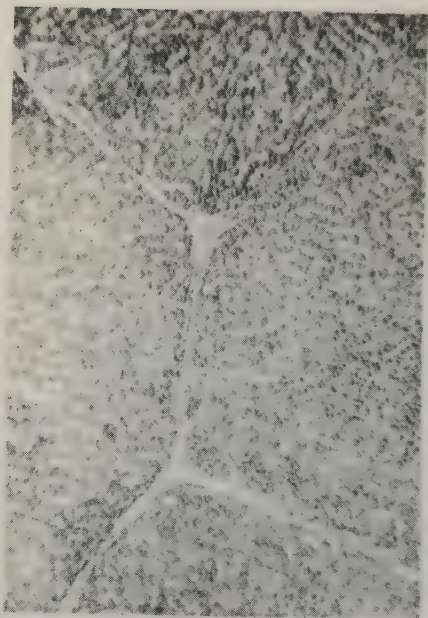


Abb. 33: Glykogenfärbung der Leber vor Perfusion.

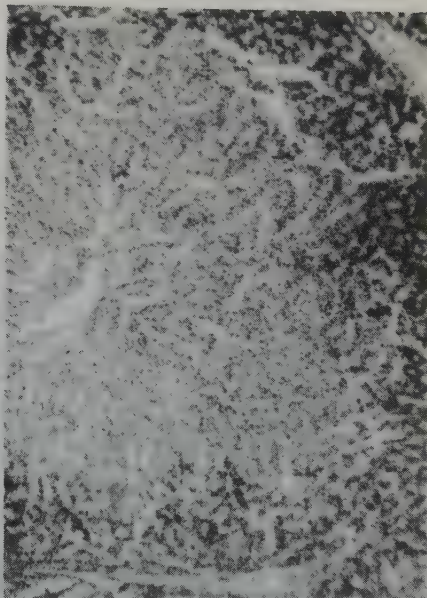


Abb. 34: Glykogengehalt
nach Perfusion

7. Diskussion

a) Sauerstoffverbrauch der perfundierten Leber.

Der Sauerstoffverbrauch ist direkt von der Stoffwechselleistung der Leber abhängig und scheint uns daher ein brauchbarer Parameter für die Funktionsfähigkeit der Leber zu sein. Die Angaben der Literatur über den Sauerstoffverbrauch schwanken von 0,013 ml/g Leber/Min. bis 0,050 ml/g Leber/Min. (35, 54, 115, 119). In unseren Versuchen lag der Sauerstoffverbrauch zunächst bei 0,023 ml und fiel dann langsam während der Perfusion ab (Abb. 6). Dies verspricht einen allmählichen Rückgang der Stoffwechselleistung der Leber während der Perfusion. Bei Vergiftung mit CCl_4 und Allylformiat ist ein rascher Abfall des Sauerstoffverbrauchs zu erkennen und die venöse O_2 -Sättigung steigt entsprechend an (Abb. 7 und 8). Nach Allylformiat sinkt auch die arterielle O_2 -Sättigung. Daraus folgt, daß von diesem Gift nicht nur die Leber, sondern auch die Erythrozyten geschädigt werden und daher im Oxygenator nicht voll aufgesättigt werden können. Nach vorübergehender Ischämie nimmt der Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit von der Dauer des Sauerstoffmangels ab (115, 116). Wir selbst konnten nach O_2 -Mangel nur lückenhafte Gasanalysen durchführen. Nach 20 und 30 Min. Ischämie war ein wesentlicher Unterschied zu den Normalperfusionen nicht festzustellen.

b) Erythrozytenschädigung und Veränderung im Gerinnungssystem

Haemoglobin, Erythrozytenzahl und Haematokrit (Abb. 9) sowie Thrombozyten (Abb. 11) sinken während einer Perfusion kontinuierlich ab.

Entsprechend der Erythrozytenschädigung können α -HBDH (Abb. 15) und G-6-PDH (Abb. 16) signifikant vermehrt im Perfusionsblut nachgewiesen werden. Bei einem Kontrollversuch ohne Leber unter sonst gleichen Versuchsbedingungen stiegen die beiden Fermente dagegen wesentlich weniger an. Die Erythrozyten werden also offenbar nicht so sehr durch die Perfusion mechanisch, sondern vorwiegend bei der Leberpassage geschädigt, wobei Gerinnungsvorgänge eine entscheidende Rolle spielen dürften. Eiseman konnte zwar nach klinischen Perfusionen mit Heparinisierung keine Thrombosen in der Leber nachweisen (42), bei unseren eigenen histologischen Untersuchungen stellten wir aber häufig erhebliche Erythrozytenansammlungen, teils in den Kapillaren, teils innerhalb der Leberläppchen fest. Schleifer (97) sah nach dreistündiger Perfusion Thromben in kleinen Pfortaderästen. Nach den Untersuchungen von Winch (114) nimmt der Fibrinogengehalt des Blutes während der Perfusion ab, was ebenfalls für Gerinnungsvorgänge spricht. Prothrombin und die partielle Thromboplastinzeit (jeweils ausgedrückt in % der Norm) stiegen in unseren Versuchen signifikant an (Abb. 13). Es werden also Gerinnungsfaktoren von der perfundierten Leber synthetisiert.

Es ist somit festzuhalten, daß im Gerinnungssystem unterschiedliche Veränderungen auftreten. Einer Besserung des Prothrombins und der partiellen Thromboplastinzeit steht ein Abfall der Thrombozyten und wahrscheinlich des Fibrinogens gegenüber. Möglicherweise wird auch Fibrinogen (2) neu gebildet, wobei aber der Verbrauch durch intrahepatische Gerinnungsvorgänge größer ist, als die Neusynthese. Für die klinische Anwendung ergibt sich die Konsequenz, vor und während einer Leberperfusion Fibrinogen und möglichst auch Thrombozyten zu ersetzen.

Nach Vergiftung mit CCl_4 verliert die Leber offenbar ihre Fähigkeit, Eiweißkörper zu synthetisieren (Abb. 14), da kein Anstieg der Prothrombin- und PTZ-Werte zu verzeichnen ist, während nach einer Ischämie bis 30 Minuten eine verminderte Neubildung von Gerinnungsfaktoren noch festzustellen ist. Nach Allylformiat werden Leber, Erythrozyten und wahrscheinlich auch die im Blut kreisenden Eiweißsubstanzen schwer geschädigt, Prothrombin und PTZ fallen sehr rasch ab, α -HBDH steigt steil an.

c) Schädigung der perfundierten Leber.

Für die Frage, inwieweit die Leberperfusion in größerem Umfang klinisch eingesetzt werden kann, schien es uns wichtig, das Ausmaß der Leberparenchymschädigung während der Perfusion festzustellen. Als Indikator hierfür verwendeten wir die Transaminasen, die LDH und die ICDH. LDH und GPT treten schon bei geringer Membranschädigung der Zellen aus, da sie vorwiegend im Zytoplasma vorkommen. GOT ist an die Mitochondrien gebunden und damit ein "Indizenzym" (119): Ihre Zunahme im extrazellulären Raum bedeutet immer eine Zellnekrose. ICDH, ein Ferment des Zitronensäurezyklus und damit ein wichtiges Enzym im intermediären Stoffwechsel, ist vorwiegend in den Mitochondrien und im Zytoplasma der Leber lokalisiert (33). Der Anstieg der GOT (13, 19, 111, Abb. 17) und der ICDH (Abb. 19) beweist daher eine Leberzellschädigung während der Perfusion. GPT steigt nur wenig an (15, 18, 49, 97, 111, Abb. 17), Dieses Ferment ist aber in der Schweineleber in wesentlich geringerer Konzentration als beim Menschen enthalten (28). Dementsprechend fand Gibitz (49) im Perfusionsblut einen Quotienten GOT zu GPT

3,5-4,0, während er beim Menschen 1,2 beträgt.

Die Erhöhung der LDH wird weniger durch Zellnekrosen in der Leber verursacht, sondern durch Haemolyse der Erythrozyten. Man kann dies mit dem gleichsinnigen Anstieg des LDH-1-Isoenzym α -HBDH beweisen, welches ausschließlich in den Erythrozyten vorkommt (Abb. 18). Erst in der 3. und 4. Stunde liegt die Gesamt-LDH über dem Isoenzym. Sie ist dann ebenfalls teilweise durch Leberzellschädigungen bedingt.

Nach Vergiftung stiegen GOT (Abb. 21), ICDH (Abb. 22) und LDH (Abb. 20) an, wobei Allylformiat die Zellen wesentlich mehr schädigt, als CCl_4 . Vorübergehender O_2 -Mangel führte dagegen nur zu geringen Veränderungen dieser Fermente.

d) Galleausscheidung

Die Funktion der perfundierten Leber wird vielfach nach der Menge der ausgeschiedenen Galle bewertet (80). Sie erreicht jedoch niemals physiologische Verhältnisse. Nach Eiseman (36) beweist eine stündliche Galleproduktion von 5 ml eine ausreichende Leberfunktion. Ähnliche Zahlen geben andere Untersucher an (35, 54, 70, 80, 83). Bei uns lag die durchschnittliche Gallenmenge bei 2,6 ml pro Stunde. Diese vergleichsweise geringere Menge wird wahrscheinlich dadurch verursacht, daß wir fast ausschließlich ältere Blutkonserven verwendet haben. Zudem ist eine verminderte Gallenmenge nicht gleichbedeutend mit geringer Sekretion, da zum Beispiel die Bilirubin-Konzentration bei verminderter Produktion ansteigt (35). Andererseits kann auch bei geringer Leberfunktion die Galleausscheidung erhalten sein (16). So konnten wir nach-

weisen, daß eine Leber auch nach Vergiftung mit Allylformiat noch Galle produziert, obwohl die Fermentuntersuchungen einen ausgeprägten Leberschaden ergeben haben und der Sauerstoffverbrauch auf nahezu 0 zurückgegangen war. Für die Frage, ob eine Leber ausreichend funktioniert oder nicht, ist also die Konzentration der ausgeschiedenen Substanzen wichtiger, als die absolute Gallemenge. Wenn der Spiegel von Bilirubin und Cholesterin in der Galleflüssigkeit wesentlich höher liegt als im Blut (16), wie wir auch in den eigenen Versuchen nachweisen konnten, stellt das eine aktive Leistung von funktionierendem Leberparenchym dar. Umgekehrt war nach Vergiftung mit Tetrachlorkohlenstoff die Bilirubinkonzentration mit 1,8 mg% nur wenig und nach Allylformiatvergiftung mit 0,46 mg% nicht höher als im Perfusionsblut.

e) Die Ammoniakbelastung

Bei der Ammoniakbestimmung fiel zunächst auf, daß trotz Verdünnung der Konserve mit Dextranlösung die Ausgangswerte sehr hoch (bei heterologen Perfusionen bei durchschnittlich 609 μ g%) lagen. Auf den hohen Ammoniakgehalt von Blutkonserven haben Cincinotti (25) und Spear (100) hingewiesen. Man sollte daher bei klinischer Anwendung der Leberperfusion zum Füllen des Systems ebenso wie bei Austauschtransfusionen immer Frischblut verwenden.

Bereits nach 15 Minuten waren normale Ammoniakwerte um 50 μ g% im Perfusionsblut erreicht. Auf die rasche Metabolisierung des Ammoniaks bei der Leberperfusion hat Eiseman und Mitarbeiter bereits 1961 aufmerksam gemacht (40). Wenn man in den Perfusionskreislauf 0,5 g Ammoniumzitrat zugibt, normalisieren sich die Ammoniakwerte nach spätestens

30 Minuten, oft schon nach 15 Minuten völlig (Abb. 23). Unterschiede zwischen heterologer, homologer und autologer Perfusion bestanden nicht. Die Befunde von Boeckl (15), wonach der Harnstoff-N nach Zugabe von Ammoniumzitrat wesentlich stärker ansteigt als bei den Kontrollperfusionen, konnten wir ebenfalls bestätigen (Abb. 28). Der Anstieg des Harnstoff-N ist durch den Abbau des Ammoniaks im Harnstoff-Zyklus bedingt. Die Fähigkeit, Ammoniak zu eliminieren, blieb auch nach Unterbrechung der Sauerstoffzufuhr für 20 oder 30 Minuten erhalten (Abb. 24). Selbst eine Leber, die 30 Minuten im toten Schwein belassen worden war, konnte Ammoniak, wenn auch deutlich verzögert, abbauen (Abb. 26). Ebenso wenig wurde diese Funktion nach Vergiftung mit CCl_4 beeinträchtigt (Abb. 25), obwohl wegen des abfallenden Sauerstoffverbrauchs und der vermehrten Freisetzung der Leberfermente eine erhebliche Leberzellschädigung angenommen werden muß. Nur Allylformiat führte zu einer globalen Vergiftung der Leber, sodaß Ammoniak danach nicht mehr metabolisiert werden konnte (Abb. 27). Auch nach erheblicher Leberschädigung kann dieses Organ also Ammoniak abbauen (40, 115, 116). Wir glauben daher nicht, daß sich die Ammoniakbelastung für die Funktionsdiagnostik der Leber eignet. Geringgradige Beeinträchtigungen der Funktion werden nicht erfaßt. Auch die klinische Anwendung der Ammoniakbelastung sagt wahrscheinlich über die Leber nur wenig aus. Die Schnelligkeit des Ammoniakabbaus gibt nur darüber Aufschluß, in welchem Maße die Leber vom portalen Blut umgangen wird. Je langsamer Ammoniak metabolisiert wird, desto mehr Anastomosen zwischen Porta- und Cava-Strom-Gebiet haben sich gebildet (98).

f) Beurteilung der Leberfunktion

Die Synthese von Gerinnungsfaktoren und anderen Eiweißkörpern während einer experimentellen Leberperfusion mit menschlichem Blut beweist, daß das perfundierte Organ zumindest wichtige Teilfunktionen behält. Cholesterin und Bilirubin werden mit der Gallenflüssigkeit in wesentlich höherer Konzentration als im Perfusionsblut ausgeschieden. Für eine aktive Stoffwechselleistung spricht auch der nachweisbare Sauerstoffverbrauch.

Die klinische Anwendung der heterologen Leberperfusion ist daher in ausgewählten Fällen sinnvoll. Es darf aber nicht verkannt werden, daß das Fremdorgan während der Perfusion auch geschädigt wird (54). Wir konnten dies mit der Erhöhung leberspezifischer Fermente wie GOT und ICDH nachweisen. Die fortlaufende Bestimmung dieser Fermente und die Änderung des Sauerstoffverbrauchs stellen unseres Erachtens empfindliche Indikatoren für eine Schädigung dar. Die Ammoniakbelastung und die Menge der ausgeschiedenen Galle sind dagegen weniger zur Beurteilung der Leberfunktion geeignet. Unsere Untersuchungen nach vorübergehendem Sauerstoffentzug bis 30 Minuten bestätigen die Befunde von Ashford (7) und Van Wyck (115), wonach die Leber dadurch noch nicht erheblich geschädigt wird. Deutliche Funktionsminderungen fanden wir nach Vergiftung mit CCl_4 . Allylformiat führte zu einer weitgehenden Zerstörung der Leberzellen.

C. Klinische Anwendung

1. Möglichkeiten des Leberersatzes

Die konservative Therapie des Leberkomas hat eine

Letalität von 50 und mehr %. In den letzten Jahren haben daher Verfahren an Bedeutung gewonnen, die einen vorübergehenden oder bleibenden (Transplantation) Ersatz der Leberfunktion anstreben. Beim temporären Leberersatz hofft man, daß sich die erkrankte Leber ähnlich der Niere wieder erholt. Die Konstruktion einer künstlichen Leber, analog zur künstlichen Niere, wird allerdings wegen der komplexen Leberfunktion utopischer Wunschtraum bleiben.

a) Haemodialyse

Die Behandlung des Leberkomas mit der Haemodialyse wurde versucht (8, 62), ohne daß sie sich als sehr effektiv erwiesen hätte. Die parabiologische oder gekreuzte Dialyse (63, 87) wurde beim Menschen in dieser Indikation noch nicht angewandt.

b) Reduzierung des Ammoniaks mit Austauscherharz

Der Ammoniakspiegel kann durch Kontakt mit einem kationenaktiven Austauscherharz (Resin) gesenkt werden (96, 120). Ein entscheidender Fortschritt in der Therapie des Leberkomas ist jedoch durch diese Methode nicht zu erwarten, da ja die Erhöhung des Blutammoniaks nicht die alleinige Ursache des Leberkomas ist.

c) Hypothermie

Durch die Hypothermie soll die Bildung und Resorption von Abbaustoffen aus dem Darm, sowie infolge Reduzierung der Blutfülle im portalen System die Gefahr einer gastrointestinalen Blutung verringert werden (61).

d) Kreuzzirkulation

Sie wurde bereits 1926 von Nyiri (82) und 1930 von Firor (46) experimentell erprobt. Lillehey und Mitarbeiter verwendeten den gekreuzten Kreislauf bei Eingriffen am offenen Herzen. 1951 hat Biermann und Mitarbeiter (14) die Kreuzzirkulation bei Leukämie versucht. Seit 1952 (92) wurde das Verfahren zunehmend bei der Behandlung des Leberkomas angewandt (59, 60, 21, 22, 65, 76, 77, 89, 45). Wegen der großen Gefahr, Hepatitisviren zu übertragen, glauben wir nicht, daß die Kreuzzirkulation routinemäßig angewendet werden kann. Das Infektionsrisiko entfällt allerdings, wenn als Spender Menschenaffen, deren Blut vorher mit menschlichem Blut ausgetauscht worden ist, benutzt werden (55, 95).

e) Austauschtransfusion

Die Austauschtransfusion wurde von Lee und Mitarbeiter 1958 in die Therapie des hepatischen Komas eingeführt, (67). Seitdem wurde sie mit wechselndem Erfolg durchgeführt (9, 44, 57, 58, 64, 66, 68, 88, 108, 109, 117). Bei diesem Verfahren werden dem Patienten wiederholt 5 - 7 l Blut ausgetauscht. Wegen des hohen Ammoniakgehaltes von Blutkonserven sollte man hierbei ausschließlich Frischblut verwenden. Wegen des enormen Blutbedarfs wird sich diese Methode wahrscheinlich zur Routinebehandlung des Leberkomas nicht durchsetzen.

f) Hilfsleber

Die Implantation einer Hilfsleber könnte dagegen ein Verfahren sein, welches sich in größerem Umfang klinisch anwenden läßt. Es wird hierbei eine tierische oder auch menschliche Kadaverleber vorüber-

gehend implantiert und nach Erholung der eigenen Leber wieder entfernt. Verschiedene Autoren (10, 72, 105) haben sich experimentell mit diesem Verfahren befaßt. Eiseman (36) berichtete über einen erfolglosen klinischen Versuch.

g) Transplantation

Neben dem primären Leberkarzinom ist das finale Leberversagen eine Indikation zur Lebertransplantation. Die technischen und immunologischen Schwierigkeiten sind jedoch noch nicht überwunden. Eine routinemäßige Anwendung ist daher derzeit nicht möglich (20, 23, 101 - 104).

h) Heterologe Leberperfusion

Seitdem die heterologe Schweineleberperfusion von Eiseman (42) 1965 erstmals klinisch angewendet worden ist, haben zahlreiche Autoren über ihre Erfahrungen berichtet (1-5, 15-18, 26, 29, 30, 31, 37, 38, 43, 52, 73, 74, 78, 79, 80, 81, 86, 88, 99, 112, 113).

Auch bei Kindern wurde die heterologe Perfusion schon versucht (12, 5). Homologe Perfusionen mit isolierten Lebern frisch Verstorbener wären an sich günstiger. Die Beschaffung solcher Organe stößt aber wie bei der Transplantation auf große Schwierigkeiten, sodaß in der Regel darauf verzichtet werden muß. Wir haben acht Schweineleber-Perfusionen bei vier Patienten durchgeführt, über die wir im folgenden berichten.

2. Kasuistik

Auf Abb. 35 sind die vier Patienten tabellarisch aufgeführt. Bei der ersten Patientin wurden die

Perfusionen am 5.6.69 und am 12.6.69 durchgeführt. Sie leidet an einer biliären Zirrhose nach Verschuß der ableitenden Gallenwege. Die Stenose konnte zwar chirurgisch beseitigt werden, die Zirrhose besserte sich jedoch nicht. Hohe Bilirubin-, (19,4 mg%), Cholesterin- (1.188 mg%) und Gesamt-Lipid-Werte (2.460 mg%) konnten durch die beiden Perfusionen um jeweils 50 % gesenkt werden.

Der 57-jährige zweite Patient leidet an einer Alkoholzirrhose mit portaler Hypertension. Wegen einer vorausgegangenen Oesophagusvarizenblutung wurde am 27.1.70 ein porto-kavaler Shunt angelegt. Wenige Tage nach der Operation trat ein tiefes Leberkoma auf. Es wurde daher am 30.1.70 die erste Perfusion durchgeführt. Anschließend war der Patient wieder ansprechbar und nach der zweiten Perfusion am 4.2.70 war er wieder völlig bewußtseinsklar und geordnet. Er befindet sich derzeit am Rande der Kompensation. Die Prognose ist aber sehr ungünstig, da der Patient an einem inoperablen Bronchialkarzinom leidet.

Bei der dritten 56-jährigen Patientin war am 22.2.70 ebenfalls nach einer vorausgegangenen Oesophagusvarizenblutung eine porto-kavale Anastomose angelegt worden. Die Ursache der portalen Hypertension war bei ihr eine posthepatitische Zirrhose. Trotz der Shunt-Operation traten wiederholt kleinere Blutungen aus den Oesophagusvarizen auf und es entwickelte sich ein tiefes hepatisches Koma. Am 4.3.70 haben wir eine Leberperfusion durchgeführt, die den Zustand kurzfristig besserte. Die Patientin war vorübergehend ansprechbar, fiel aber bald wieder ins Leberkoma zurück und verstarb vier Tage nach der Perfusion.

Schweineleberperfusionen in der Chir. Klinik der Univ. Erlangen - Nbg.

Patienten	Diagnose	Koma	Zahl d. Perf.	Ergebnis
Kr., M. - 40 Jahre 94 484	biliäre Zirrhose	nein	2	keine entscheidende Änderung, lebt
St. E. - 57 Jahre 117 194	Alkohol - Zirrhose Ösoph.-Varizenblutung portokavale Anastomosen	ja	2	Patient erwachte aus dem Koma, lebt
Z., J. - 56 Jahre 118 084	posthepatitische Zirrhose Ösoph.-Varizenblutung portokavale Anastomose	ja	1	Patient wurde vorübergehend ansprechbar, verstarb 4 Tage nach Perfusion
P., A. - 29 Jahre 120 784	wahrscheinlich toxisches Leberversagen nach Mitral-Klappenersatz	ja	3	Patient erwachte aus dem Koma, verstarb 5 Tage nach 3. Perfusion (Urämie)

Abb. 35

Einen leider nur vorübergehenden Erfolg erzielten wir auch bei unserem letzten Patienten. Bei ihm war wegen eines Mitralfehlers eine Klappenprothese eingesetzt worden. Wegen einer diffusen Nachblutung mußte fünf Tage später rethorakotomiert werden. Nach diesem Eingriff trat eine zunehmende Gelbsucht mit Bilirubin-Werten über 30 mg% auf. Wahrscheinlich handelte es sich um eine toxische Leberschädigung, ohne daß die Ursache völlig geklärt werden konnte. Wegen eines Leberkomas im Stadium II - III haben wir am 14.5., 17.5. und 20.5.70 Leberperfusionen durchgeführt (Abb. 36). Nach jeder Perfusion trat eine deutliche klinische Besserung auf, immunologische Reaktionen fanden sich nicht. Im Sinne eines biliorenenalen Syndroms stieg aber der Harnstoff-Stickstoff stetig an und die Urinausscheidung ließ zunehmend bis zur Anurie nach. Wir mußten uns daher zu einer Haemodialyse entschließen, die jedoch den letalen Verlauf nicht mehr aufhalten konnte.

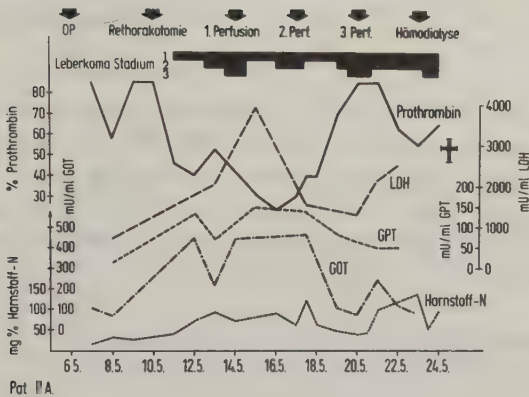


Abb. 36: Krankheitsverlauf des Patienten P.A.
Leberversagen nach Mitralklappenersatz

3. Perfusionstechnik

Auswahl und Vorbereitung der Spenderschweine sowie Leberentnahme und Kaltspülung wurden wie bei den experimentellen Perfusionen durchgeführt. Auf einen Oxygenator und einen Hitzeaustauscher haben wir verzichtet (Abb. 37). Die Durchflußmenge lag bei knapp 0,5 ml/g Lebergewicht/Min. Dies ist wesentlich geringer als bei den experimentellen Perfusionen. Da wir jedoch immer die A. hepatica und die V. portae kanüliert haben, genügt dieser Flow für eine ausreichende Leberfunktion (36, 106). Siebenmal haben wir eine generelle Heparinisierung mit etwa 75 mg Heparin durchgeführt. Durch Injektion kleiner Dosen von Protamin-Chlorid haben wir uns hierbei bemüht, die Gerinnungszeit nicht über 15 Minuten ansteigen zu lassen. Einmal versuchten wir eine regionale Heparinisierung. Nach einer

Stunde und 20 Minuten kam es jedoch zu intrahepatischen Thrombosen, sodaß die Perfusion abgebrochen werden mußte.

Bei allen vier Patienten legten wir einen Scribner-Shunt am Unterarm an. Beim zweiten Patienten benutzten wir zusätzlich einen Scribner-Shunt am anderen Unterarm und beim letzten Patienten punktierten wir zusätzlich die A. und V. femoralis eines Beines.

4. Ergebnisse

a) Sauerstoffverbrauch

In Abb. 38 sind Sauerstoffsättigung, Sauerstoffverbrauch und pO_2 von zwei klinischen Perfusionen zusammengefaßt (Patient P.A.). Man sieht, daß der Sauerstoffverbrauch nach drei Stunden absinkt, daß also die Leberfunktion offenbar nachläßt. Bei diesem Patienten war der Sauerstoffpartialdruck im Blut stark erniedrigt. Trotzdem war die Sauerstoffsättigung ausreichend.

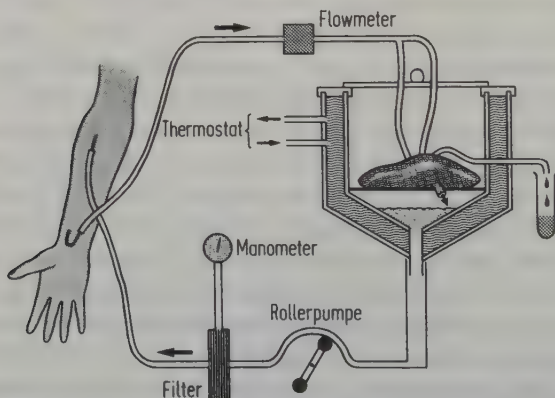


Abb. 37: Perfusionskreislauf bei heterologer Schweineleberperfusion.

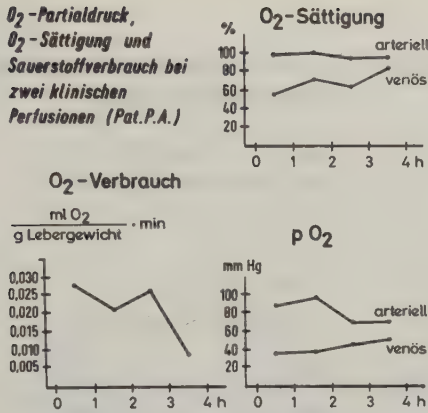


Abb. 38

b) Blutchemische Veränderungen

Die Serumelektrolyte veränderten sich während der Perfusion nicht (Abb. 39). Der Harnstoff-N stieg dagegen von 40 auf 55 mg% an. Die Alkali-Reserve hatte eine leicht abfallende Tendenz (Abb. 40).

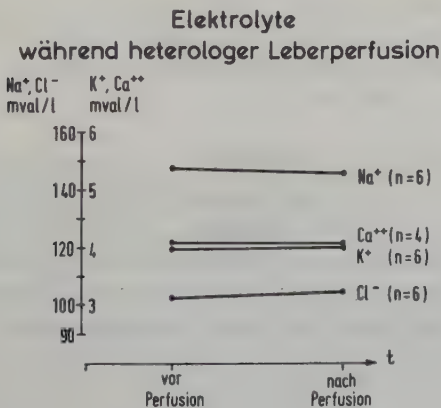


Abb. 39

Harnstoff-N und Alkalireserve bei heterologer Schweineleberperfusion

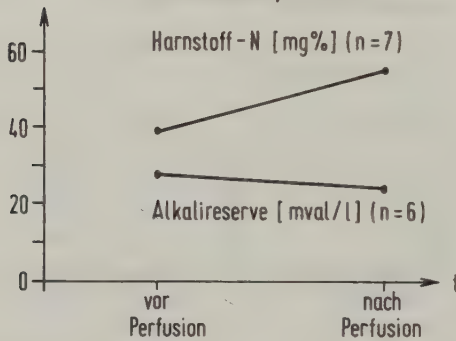


Abb. 40

Bilirubin, Cholesterin und auch die alkalische Phosphatase fallen deutlich ab (Abb. 41). Da die alkalische Phosphatase in verschiedenen Einheiten gemessen wurde, sind die Werte in % des Ausgangswertes umgerechnet. Die Ammoniakbestimmung konnte nicht bei allen Perfusionen durchgeführt werden. Einmal sank der Ammoniakspiegel von 105 auf 22,8 $\mu\text{g}\%$ und einmal von 45 auf 16 $\mu\text{g}\%$. Die Transaminasen und die LDH steigen während der Perfusion vorübergehend an (Abb. 42).

Ein Anstieg der α -HBDH und der G-6-PDH (Abb. 43) ist wie bei den experimentellen Perfusionen auch bei der klinischen Anwendung nachweisbar. Auffallend sind die sehr hohen α -HBDH-Ausgangswerte bei diesem Patienten, wahrscheinlich infolge einer vermehrten Haemolyse durch vorausgegangene Bluttransfusionen.

Heterologe Schweineleberperfusion

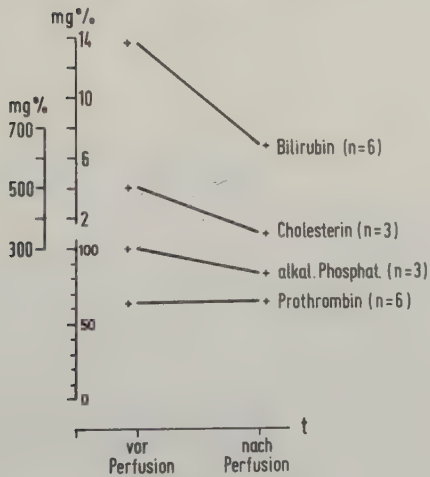


Abb. 41: Änderungen von Bilirubin, Cholesterin, alkalischer Phosphatase und Prothrombin.

Die ICDH steigt etwa in gleichem Maße an wie bei den experimentellen Perfusionen.

GPT, GOT und LDH während heterologer Schweineleberperfusion

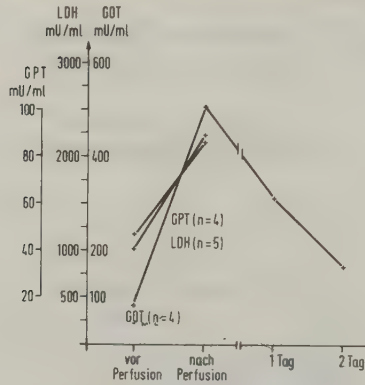


Abb. 42

Änderung von G-6-PDH, HBDH und ICDH während heterologer Leberperfusion (n=2) Pat. P.A.

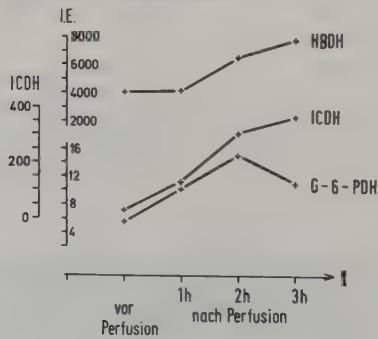


Abb. 43

c) Galleausscheidung

Die Galleausscheidung lag zwischen 2,6 und 32 ml/Perfusion. Die Bilirubinkonzentration war mit durchschnittlich 242 mg% (101 mg% bis 421 mg%) ebenso wie Cholesterin (durchschnittlich 693 mg%) weit höher als bei experimentellen Perfusionen. Prothrombin veränderte sich während der Perfusion nur wenig (Abb. 41).

5. Besprechung

Von allen Verfahren bei der Behandlung des Leberkomas werden in größerem Umfang nur die Austauschtransfusion und die Schweineleberperfusion angewendet. Die Wirksamkeit der Austauschtransfusion beruht möglicherweise auf der Übertragung von Hepatitis-Antikörpern (89). Im Gegensatz zur Leberperfusion ist aber ihr Aufwand enorm. Für eine Behandlungsserie benötigt man manchmal über 50 l Frischblut, eine Menge, welche die Kapazität auch großer Blutspendezentralen überfordert.

Der entscheidende Schritt bei der Entwicklung der heterologen Perfusion war die Erkenntnis, daß auch eine mit menschlichem Blut durchströmte Schweineleber wichtige Funktionen behält (70, 35). Nach den Untersuchungen von Boeckl (15 - 18) und unseren Erfahrungen eignet sich im Experiment auch Konservenblut. Das Hauptproblem ist bei der klinischen Anwendung, einen ausreichenden arteriellen Zufluß aufrecht zu erhalten. Er sollte 400 ml bei einer etwa 1 kg schweren Leber (0,4 ml/g Leber/Min.) nicht unterschreiten. Eiseman (39) gibt einen Mindestflow von 200 ml über die A. hepatica oder von 500 ccm über die Pfortader an.

Wir verwendeten Schweine mit einem Gewicht zwischen 21 und 30 kg. Die Lebern dieser Tiere wogen zwischen 550 und 920 g. Es wurden immer A. hepatica und V. portae gemeinsam kanüliert. Der Flow lag zwischen 180 ml und 480 ml, auf das Lebergewicht bezogen bei durchschnittlich 0,45 ml/Leber/Min. Da die Durchblutung eines Armes (48) für ein ausreichendes Blutangebot häufig nicht ausreicht (39), haben wir bei einem Patienten einen Scribner-Shunt an beiden Unterarmen angelegt und bei einem anderen zusätzlich die A. femoralis punktiert. Ein Blutdruckabfall sollte unbedingt vermieden werden, da eine Hypotension die Durchflußmenge senkt und die perfundierte Leber schädigt.

Bei zwei Perfusionen unseres dritten Patienten führten wir Gasanalysen aus (Abb. 38). Sie zeigten trotz eines niedrigen arteriellen Sauerstoffpartialdruckes ausreichende Sättigungswerte im arteriellen Blut. Der Sauerstoffverbrauch der Leber sank nach der dritten Stunde deutlich ab. Um eine ausreichende Oxygenisierung des Blutes zu erreichen und einem Abfall des arteriellen Zuflusses vorzubeugen, verwendeten Ham (52), Watts (113) und Parbhoo (86) zusätzlich einen Oxygenator. Eiseman (39) hält ihn nicht für erforderlich. Wir selbst haben bisher ebenfalls darauf verzichtet. Die Menge der ausgeschiedenen Galle lag bei durchschnittlich 3,8 ml pro Stunde und war damit höher als bei experimentellen Perfusionen. Entsprechend den hohen Ausgangswerten an Cholesterin und Bilirubin im Blut fanden wir in der Galle hohe Bilirubinkonzentrationen zwischen 101 mg% und 421 mg% (im Durchschnitt 242 mg%). Der Cholesterinspiegel in der Galle war mit 693 mg% ebenfalls viel höher als bei den experimentellen Versuchen. Die Veränderungen der Transaminasen, der ICDH, der G-6-PDH, der α -HBDH und der LDH entsprachen

etwa den Befunden im Experiment. Der Anstieg der Transaminasen während der Perfusion glich sich jedoch später wieder weitgehend aus (Abb. 36, 42). Bersohn (11) konnte Schweine-LDH auch im Patientenserum nachweisen.

Das Prothrombin blieb während der Perfusion konstant. Auf Abb. 36 ist jedoch deutlich ersichtlich, wie sich die Prothrombinwerte nach zwei Perfusionen erholen und erst praefinal wieder eine fallende Tendenz erkennen lassen. Obwohl wir mit einer Ausnahme eine allgemeine Heparinisierung durchgeführt haben, sahen wir nur einmal eine Blutungskomplikation (Rezidivblutung aus Oesophagusvarizen). Nachdem wir die Gerinnungszeit mit kleinen Protaminchlorid-Dosen auf 5 - 10 Minuten reduziert hatten, konnte auch diese Perfusion weitergeführt werden. Um einem möglichen Fibrinogenabfall vorzubeugen (114) werden wir in Zukunft routinemäßig Fibrinogen zufügen. Eiseman (39) empfiehlt Epsilon-Aminocapron-Säure wegen der Aktivierung des fibrinolytischen Systems.

Abgesehen von der erwähnten Blutung und einem leichten Schüttelfrost bei zwei Perfusionen hatten wir keine Komplikationen zu verzeichnen. Immunologische Untersuchungen haben wir nicht durchgeführt. Norman fand trotz Nachweises von Schweine-Antigen im Patientenblut keine Antikörper und sieht daher keine immunologische Schranke für die Leberperfusion (80). Watts (112) konnte allerdings bei einem Patienten noch drei Wochen nach der Perfusion Schweineeiweiß nachweisen. Da wir wie bei den experimentellen Untersuchungen auch bei klinischer Anwendung der Schweineleberperfusionen nach den Fermentuntersuchungen Schädigungen der Erythrozyten (Anstieg der α -HBDH und G-6-PDH) und des

Leberparenchyms (Anstieg von GOT und GPT) annehmen müssen (54), haben wir Langzeitperfusionen über vier Stunden noch nicht durchgeführt (Abb. 44).

Perfusionsdauer bei 8 heterologen Schweineleberperfusionen

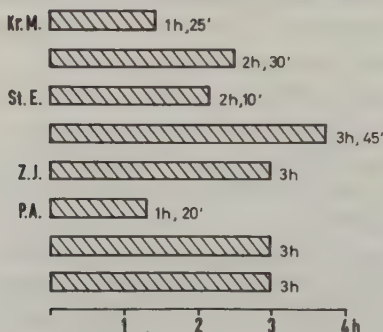


Abb. 44

6. Indikation der heterologen Schweineleberperfusion

Da bei konservativer Therapie des Leberkomas die Letalität über 50 %, nach Angaben von Abouna (2) aus dem angloamerikanischen Schrifttum bei akuter Lebernekrose sogar bei 90 % liegt, halten wir die Anwendung der heterologen Schweineleberperfusion in diesen Fällen als letztmögliche therapeutische Maßnahme für indiziert.

In erster Linie sollte sie bei akuten Leberschädigungen (Leberzerfallscoma) wie Vergiftungen und fulminant verlaufender Virushepatitis versucht

werden (ein eigener Patient).

Bei chronischer Leberschädigung (Leberausfalls-koma), vor allem der Alkoholzirrhose (39) kann man eine Besserung nicht erwarten. Wenn aber eine akute Verschlechterung bei einer Zirrhose, meist infolge einer Oesophagusvarizenblutung bei portaler Hypertension eintritt, ist es unseres Erachtens ebenfalls gerechtfertigt, die Perfusion anzuwenden (zwei eigene Patienten). Ebenso wie bei dem akuten Schub einer chronischen Glomerulonephritis durch Haemodialysen eine Rekompensation möglich ist, kann evtl. die akute Intoxikation durch Ammoniak und andere Abbauprodukte beherrscht werden. In einem unserer Fälle ist es durch zweimalige Schweineleberperfusion gelungen, das Koma zu durchbrechen und der Patient konnte in einem ausreichenden Zustand die Klinik verlassen.

Als Vorbereitung für eine Lebertransplantation bietet sich die heterologe Schweineleberperfusion ebenfalls an.

Bei unserer ersten Patientin bestand eine biliäre Zirrhose mit extrem hohen Cholesterinwerten (bis 1200 mg%), die trotz entsprechender konservativer Therapie nicht gesenkt werden konnten. Durch die beiden Leberperfusionsen ging das Bilirubin von 19 auf 8 mg% und Cholesterin auf 600 mg% zurück. Das Grundleiden wurde selbstverständlich durch die Perfusionsen nicht gebessert. Für diese Indikation ist daher eine generelle Anwendung der Leberperfusion weniger zu empfehlen.

D. Zusammenfassung

Die experimentellen Untersuchungen bei insgesamt 37 Schweineleberperfusionen haben gezeigt, daß die Leber während der Durchströmung zwar geschädigt wird (Anstieg der GOT und der ICDH), daß aber das Organ dennoch wichtige Stoffwechselleistungen ausüben kann: Cholesterin und Bilirubin sind in der Gallenflüssigkeit wesentlich höher konzentriert als im Perfusionsblut. Aus der arterio-venösen O_2 -Sättigungsdifferenz läßt sich ein erheblicher Sauerstoffverbrauch errechnen (2,3 ml/100 g Lebergewicht/Min.). Außerdem werden Gerinnungsfaktoren und andere Eiweißkörper synthetisiert.

Erythrozyten und Prothrombin nehmen weniger infolge einer mechanischen Traumatisierung durch den Perfusionskreislauf ab, sondern sie werden in der Leber, wahrscheinlich infolge von Gerinnungsvorgängen geschädigt. Dementsprechend steigen α -HBDH und G-6-PDH an.

Bei einer Unterbrechung der Sauerstoffzufuhr von 30 Minuten sind nur geringe Änderungen festzustellen. Eine Vergiftung der Leber mit Tetrachlorkohlenstoff schädigt das Organ jedoch erheblich. Nach Vergiftung mit Allylformiat erlischt jegliche Funktion.

Bei vier Patienten haben wir die heterologe Schweineleberperfusion auch klinisch angewendet. Drei dieser Kranken waren komatös (Stadium III). Bei einer weiteren Patientin bestanden infolge einer biliären Zirrhose sehr hohe Cholesterin-, Lipid- und Bilirubinspiegel im Serum. Unmittelbar nach den insgesamt acht Perfusionen (zwei Patienten wurden je zweimal, einer dreimal perfundiert) war eine deutliche klinische Besserung festzustellen,

zwei Patienten erlagen jedoch ihrem Leberleiden.

Die während der Perfusion erhobenen Befunde entsprechen im wesentlichen den experimentellen Werten. Schwerwiegende Komplikationen sind nicht aufgetreten (Eine Blutung aus Oesophagusvarizen stand nach Inaktivierung des Heparins mit Protaminchlorid, zweimal war leichter Schüttelfrost festzustellen.).

Literaturverzeichnis

- 1 Abouna, G.M.
Experience with extracorporeal pig-liver perfusion
in the treatment of hepatic coma.
Gut 9: 730 (1968)
- 2 Abouna, G.M. , J.R. Kirkley, C.J. Hull, T. Ashcroft,
D.N.S. Kerr
Treatment of hepatic coma by extracorporeal pig-
liver perfusion.
Lancet I: 64 (1969)
- 3 Abouna, G.M., R. Garry, J. Kirkley, D.N. Walder
Hepatic coma due to fulminating hepatitis treated
with extracorporeal pig-liver perfusion.
Brit. J. Surg. 56: 223 (1969)
- 4 Abouna, G.M., R. Garry, C. Hull, J. Kirkley, D.N.
Walder
Pig-liver perfusion in hepatic coma.
Lancet 2: 509 (1968)
- 5 Abouna, G.M.
Vortrag auf dem 5. Meeting of the European
Association for the study of the liver. Bern 1970
- 6 Alichniewicz, A., J. Martin, H. Zalech, A. Joss,
D. Dziewaltowska, R. Markert
Experimental extracorporeal liver perfusion.
Bull. Pol. Med. Sci. Hist. 10: 153 (1967)

- 7 Ashford, Th.P., W.J. Burdette
Response of the isolated perfused hepatic parenchym
to hypoxia.
Ann. Surg. 162: 191 (1965)
- 8 Balogh, F., L. Váry, K. Mihalecz
Behandlung von komatösen Kranken mit der künstlichen
Niere.
Münch. Med. Wschr. 111: 1824 (1969)
- 9 Beck, K.
Zur Behandlung des Leberzellkomas mit Austausch-
transfusionen.
Münch. Med. Wschr. 111: 850 (1969)
- 10 Bengoechea-Gonzalez, E., Y. Awane, K. Reemtsma
Experimental auxiliary liver homotransplantation.
Arch. Surg. 94: 1 (1967)
- 11 Bersohn, J., M.C. Kew, M. Rolle, C.J. Mieny, J.A.
Myburgh
Porcine lactic dehydrogenase in the serum of patients
treated by extracorporeal porcine liver perfusion.
Brit. Med. J. 2: 84 (1969)
- 12 Beveridge, J.
Pig liver perfusion and hepatic coma.
Med. J. Aust. 1: 510 (1968)

- 13 Bibler, D.D., R.E. Condon, L.M. Nyhus
Temporary use of ex-vivo heterologous liver for
hepatic insufficiency: metabolic effects and
sensitivity to perfused protein in dogs.
Ann. Surg. 164: 61 (1966)
- 14 Bierman, H.R., R.L. Byron jr., K.H. Kelly, K.S. Dod
and P.M. Black
Studies on cross circulation in man. I. Methods and
clinical changes.
Blood, 6: 487 (1951)
- 15 Boeckl, O.
Heterologe Leberperfusion.
Z. ges. exp. Med. 147: 81 (1968)
- 16 Boeckl, O.
Experimentelle Ergebnisse der heterologen Leber-
perfusion. in
"Möglichkeiten des Leberersatzes" München-Berlin-Wien
1970, S. 97
- 17 Boeckl, O., G. Galvan, H.J. Gibitz, E. Hell, O. Staindl
H. Steiner und G. Zimmermann
Temporärer Leberersatz durch heterologe Leberperfusion.
Langenb. Archiv. klin. Chir. 318: 209 (1967)
- 18 Boeckl, O., E. Hell, G. Zimmermann
Lebersubstitution durch homologe und heterologe extra-
korporale Leberperfusion.
Z. ges. exper. Medizin 143: 362 (1967)

- 19 Bombeck, C.T., C. Biava, R.E. Condon, L.M. Nyhus
Parameters of normal liver function in the isolated,
perfused bovine liver.
in "Organ perfusion and preservation"
New York 1968, p. 573
- 20 Brettschneider, L., T.E. Starzl
Clinical liver transplantation.
in "Möglichkeiten des Leberersatzes"
München-Berlin-Wien 1970, S. 30
- 21 Burnell, J.M., J.K. Dawborn, R.B. Epstein, R.A.
Gutman, G.E. Leinbach, E.A. Thomas, W. Volwiler
Acute hepatic coma treated by cross-circulation
or exchange transfusion.
New. Engl. J. Med. 276: 935 (1967)
- 22 Burnell, J.M., E.D. Thomas, J.S. Ansell, H.E. Cross,
D.H. Dillard, R.B. Epstein, J.W. Eschbach, R.
Hogan, R.H. Hutchings, A. Motulsky, J.W. Ormsby,
P. Poffenbarger, B.H. Scribner, O. Volwiler
Observations on cross circulation in man.
Amer. J. Med. 38: 832 (1965)
- 23 Calne, R.Y., R. Williams
Liver transplantation in man - I, observations on
technique and organization in five cases.
Brit. med. J. IV: 535 (1968)

- 24 Chapman, N., P. Goldsworthy, W. Volwiler, L.M. Nyhus
Studies on the isolated perfused bovine liver.
Gastroenterology 38: 795 (1960)
- 25 Cincinotti, J.J.
Discussion of Drapanas, T. et al
Ammonia intoxication from portal diversion and
hepatic failure.
Ann. Surg. 142: 566 (1955)
- 26 Condon, R.E., C.Th. Bombeck, F. Steigmann
Heterologous bovine liver perfusion therapy of acute
hepatic failure.
Amer. J. Surg. 119: 147 (1970)
- 27 Condon, R.E., L.M. Nyhus, H.N. Harkins
Isolated perfused bovine liver.
Arch. Surg. 89: 602 (1964)
- 28 Cornelius, C.E., J Bishop, J. Switzer, E.A. Rhode
Serum and tissue transaminase activities in domestic
animals.
Cornell. Vet. 49: 116 (1959)
- 29 Dagradi, A., G.P. Marzoli, V. Puchetti
Betrachtungen über persönliche Erfahrungen mit der
heterologen Leberperfusion.
in "Möglichkeiten des Leberersatzes" Berlin-München-Wien
1970, S. 104

- 30 Dagradi, A., V. Puchetti, S. Radin, R. Petronio
Applicazione clinica della perfusione extracorporea
di fegato eterologo.
Chir. Ital. 19: 215 (1967)
- 31 Dagradi, A., V. Puchetti, S. Radin, N. di Fulvio,
M. Zennaro, A. Bano
Considerazioni in tema di emodepurazione mediante
perfusione extracorporea di fegato eterologo.
Chir. Ital. 19: 569 (1967)
- 32 Darin, J.C.
Experiences in ex vivo perfusion of the liver.
Amer. J. Surg. 111: 870 (1966)
- 33 Dawkins, M.J.R., W.G. McGregor, A.E.M. McLean
Lancet II: 827 (1959)
- 34 Dittrich, H.
Die elektronisch über Peltierelemente gesteuerte
Thermoregulation zur Ganzkörper- und Organperfusion.
Thoraxchir. vask. Chir. 17: 538 (1969)
- 35 Drapanas, Th., R.Zemel, J.W. Vang
Hemodynamics of the isolated perfused pig liver:
Metabolism according the routes of perfusion and
rates of flow.
Ann. Surg. 164: 522 (1966)

- 36 Eiseman, B.
Techniques for extracorporeal and auxiliary liver support.
in "Möglichkeiten des Leberersatzes" München-Berlin-Wien 1970, S. 89
- 37 Eiseman, B.
Treatment of liver failure.
in "The liver" Butterworths, London 1967, p. 279
- 38 Eiseman, B.
Treatment of hepatic coma by extracorporeal liver perfusion.
Ann. roy. Coll. Surg. Engl. 30: 329 (1966)
- 39 Eiseman, B., T. Kawamura, I. Tate, A. Velasquez
Effect of external pressure on oxygen utilisation by the liver.
Ann. Surg. 171: 211 (1970)
- 40 Eiseman, B., P. Knipe, H.A. McColl, M.J. Orloff
Isolated liver perfusion for reducing blood ammonia.
Arch. Surg. 83: 356 (1961)
- 41 Eiseman, B., P. Knipe, Y. Koh, L. Normell, F.C. Spencer
Factors affecting hepatic vascular resistance in the perfused liver.
Ann. Surg. 157: 532 (1963)

- 42 Eiseman, B., D.S. Liem, F. Raffucci
Heterologous liver perfusion in treatment of
hepatic failure.
Ann. Surg. 162: 329 (1965)
- 43 Eiseman, B., J. van Wyk
Methods for extracorporeal hepatic assist.
Surg. Gyn. Obstet. 123: 522 (1966)
- 44 Eisenburg, J., K.H.R. Koczorek, V. Schulz,
A. Christoforis, D. Schmidt
Die Behandlung des Leberkomas mit Austauscher-
transfusionen.
Dtsch. Med. Wschr. 92: 2199 (1967)
- 45 Eschbach, J.W., R.H. Hutchings, B. Meston, J.M.
Burnell, B.H. Scribner
A technique for repetitive and long-term human
cross circulation.
Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs 10: 280 (1964)
- 46 Firor, W.M.
Experiments in cross circulation.
Amer. J. Physiol. 96: 146 (1930)
- 47 Forman, D.T.
Rapid determination of plasma ammonia by an ion
exchange technique.
Clin. Chem. 8: 432 (1962)

- 48 Gault, J.H., J. Ross jr. and D.T. Mason
 Measurement of bloodflow in the brachial artery
 in conscious subjects by an elektromagnetic
 flowmeter.
 Circulation (Suppl. 2) 32: 94 (1965)
- 49 Gibitz, H.J.
 Chemische Untersuchungen des Blutes bei heterologer
 Leberperfusion.
 in "Möglichkeiten des Leberersatzes" Berlin-München-
 Wien 1970, S. 127
- 50 Gütgemann, A., K.H. Schriefers, G. Eßer, T.S. Lee,
 K.J. Paquet, C. Käufer
 Erfahrungsbericht über eine homologe Lebertransplan-
 tation.
 Deutsch. Med. Wschr. 94: 1713 (1969)
- 51 Häring, R., H. Brehme, S. Dressler, H. Kindler,
 H. Kotlorz, H.G. Kühn, H.J. Unkenbach, R. de Pena
 Perez, L.C. Tung, J. Waldschmitt, D. Xanthakos
 Versuchsanordnung zur extrakorporalen Perfusion einer
 Schweineleber.
 Med. Welt 20: 82 (1969)
- 52 Ham, J.M., R.C. Pirola, G.M. Davidson, S. Yarrow,
 R.G. Elmslie
 Pig liver perfusion for the treatment of acute
 hepatic coma.
 Surg. Gyn. Obstet. 127: 543 (1968)

- 53 Hardison, W.G.M., E.A. Greene, J.C. Norman
The viability and effect of flow upon function of
the ex vivo perfused pig liver.
J. lab. clin. Med. 69: 245 (1967)
- 54 Hell, E., E.B. Paulissian, Th. Drapanas
Preservation of liver by hypothermic perfusion.
in "Möglichkeiten des Leberersatzes" Berlin-München-
Wien 1970, S 57
- 55 Hume, D.M., W.G. Gayle, G.M. Williams
Cross circulation of patients in hepatic coma
with baboon partners having human blood.
Surg. Gyn. Obstet. 128: 495 (1969)
- 56 Hutchinson, J.H., D.H. Labby
New method for microdetermination of blood ammonia
by use of cation exchange resin.
J. Lab. Clin. Med. 60: 170 (1962)
- 57 Jones, E.A.
Treatment of acute hepatic failure by exchange
blood transfusion.
in "Möglichkeiten des Leberersatzes" München-Berlin-
Wien 1970, S. 214
- 58 Jones, E.A., D. Clain, H.M. Clink, M. McGillivray,
S. Sherlock
Hepatic coma due to acute hepatic necrosis treated
by exchange blood-transfusion.
Lancet II: 169 (1967)

- 59 Joyeuse, R., B. Ivanisevic, W.P. Longmire,
 J.V. Maloney

 The treatment of experimental hepatic coma by
 parabiotic cross circulation.

 Surg. Gyn. Obstet. 117: 129 (1963)
- 60 Joyeuse, R., B. Ivanisevic, W.P. Longmire, J.V.
 Maloney jr.

 The treatment of hepatic coma by parabiotic cross-
 circulation.

 Surg. Forum 13: 334 (1962)
- 61 Keirle, A.M., J.J. McGloin, R.W. Buben, W.A.
 Altemeier

 Blood ammonia; experimental and clinical reduction
 by hypothermia.

 Arch. Surg. 83: 348 (1961)
- 62 Kiley, J.E., J.C. Pender, H.F. Welch, C.S. Welch

 Ammonia intoxication treated by hemodialysis.

 N. Engl. J. Med. 259 (1958)
- 63 Krainin, M.J.

 Cross-dialysis: Description of a possible method
 of temporary kidney substitution.

 Proc. Soc. exper. Biol. Med. 82: 515 (1953)
- 64 Krebs, R., M. Flynn

 Treatment of hepatic coma with exchange transfusion
 and peritoneal dialysis.

 JAMA 199: 430 (1967)

- 65 McLean, J.A., H.A. Luke
Direct exchange blood transfusion in treatment of
hepatic coma.
Brit. Med. J. IV: 78 (1967)
- 66 Lederman, R.J., F.B. Davis, P.J. Davis
Exchange transfusion as treatment of acute hepatic
failure due to antituberculosis drugs.
Ann. internal. Med. 68: 830 (1968)
- 67 Lee, C., A. Tink
Exchange transfusion in hepatic coma.
Med. J. Aust. I: 40 (1958)
- 68 Lee, C., A. Tink
Exchange transfusions for hepatic coma.
N. Engl. J. Med. 274: 1444 (1966)
- 69 Letnansky, K., O. Boeckl
Proteinsynthese in der mit menschlichem Blut durch-
strömten Schweineleber.
in "Möglichkeiten des Leberersatzes" München- Berlin-
Wien 1970, S. 123
- 70 Liem, D.S., T.L. Waltuch, B. Eiseman
Function of the ex-vivo pig liver perfused with
human blood.
Surg. Forum 15: 90 (1964)

- 71 Lilliehei, C.W., M. Cohen, H.E. Warden, N.R. Ziegler,
R.L. Varco
The results of direct vision closure of ventricular
septal defects in eight patients by means of con-
trolled cross circulation.
Surg. Gyn. Obstet. 101: 447 (1955)
- 72 Marchioro, T.L., K.A. Porter, T.C. Dickinson,
T.D. Faris, T.E. Starzl
Physiological requirements for auxiliary liver homo-
transplantation.
Surg. Gyn. Obstet. 121: 17 (1965)
- 73 De Maria, A.
Allogenic hepatic extracorporeal assist in acute
liver failure.
Internat. Surg. 53: 206 (1970)
- 74 Mieny, C.J., J.A. Myburgh, L. Levien, F. Isaacs
A successful case of extracorporeal pig liver
perfusion.
S. Afr. Med. J. 42: 1087 (1968)
- 75 Miller, G.E., J.D. Rice
Determination of the concentration of ammonia
nitrogen in plasma by means of a simple ion ex-
change method.
Amer. J. Clin. Path. 39: 97 (1963)

- 76 Muller, J.M., M. Guignier, D. Cordonnier
Behandlung von komatösen Kranken mittels gekreuztem Kreislauf.
Münch. Med. Wschr. 111: 1827 (1969)
- 77 Muller, J.M., M. Guignier, C. Cordonnier, J.L. Debru, A. Franco
Technique simple de circulation croisée utilisée comme méthode d'assistance hépatique temporaire dans l'ictère grave par hépatite virale.
La presse medicale 77: 1483 (1969)
- 78 Norman, J.C., M.E. Brown, C.A. Saravis, F.W. Achroyd, W.V. McDermott
Perfusion techniques in temporary human isolated ex vivo porcine liver cross circulation.
Possible adjunct in the treatment of hepatic failure.
J. Surg. Res. 6: 121 (1966)
- 79 Norman, J.C., F.O. Franco, M.E. Brown, C.A. Saravis F.W. Ackroyd, W.V. McDermott
Techniques of obtaining and preparing the porcine liver for experimental and clinical temporary ex vivo perfusion.
Surg. Res. 6: 117 (1966)
- 80 Norman, J.C., C.A. Saravis, M.E. Brown, H. McDermott jr.
Immunochemical observations in clinical heterologous (xenogeneic) liver perfusions.
Surg. 60: 179 (1966)

- 71 Lillehei, C.W., M. Cohen, H.E. Warden, N.R. Ziegler,
 R.L. Varco

 The results of direct vision closure of ventricular
 septal defects in eight patients by means of con-
 trolled cross circulation.

 Surg. Gyn. Obstet. 101: 447 (1955)
- 72 Marchioro, T.L., K.A. Porter, T.C. Dickinson,
 T.D. Faris, T.E. Starzl

 Physiological requirements for auxiliary liver homo-
 transplantation.

 Surg. Gyn. Obstet. 121: 17 (1965)
- 73 De Maria, A.

 Allogenic hepatic extracorporeal assist in acute
 liver failure.

 Internat. Surg. 53: 206 (1970)
- 74 Mieny, C.J., J.A. Myburgh, L. Levien, F. Isaacs

 A successful case of extracorporeal pig liver
 perfusion.

 S. Afr. Med. J. 42: 1087 (1968)
- 75 Miller, G.E., J.D. Rice

 Determination of the concentration of ammonia
 nitrogen in plasma by means of a simple ion ex-
 change method.

 Amer. J. Clin. Path. 39: 97 (1963)

- 76 Muller, J.M., M. Guignier, D. Cordonnier
Behandlung von komatösen Kranken mittels gekreuztem Kreislauf.
Münch. Med. Wschr. 111: 1827 (1969)
- 77 Muller, J.M., M. Guignier, C. Cordonnier, J.L. Debru, A. Franco
Technique simple de circulation croisée utilisée comme méthode d'assistance hépatique temporaire dans l'ictère grave par hépatite virale.
La presse medicale 77: 1483 (1969)
- 78 Norman, J.C., M.E. Brown, C.A. Saravis, F.W. Achroyd, W.V. McDermott
Perfusion techniques in temporary human isolated ex vivo porcine liver cross circulation.
Possible adjunct in the treatment of hepatic failure.
J. Surg. Res. 6: 121 (1966)
- 79 Norman, J.C., F.O. Franco, M.E. Brown, C.A. Saravis, F.W. Ackroyd, W.V. McDermott
Techniques of obtaining and preparing the porcine liver for experimental and clinical temporary ex vivo perfusion.
Surg. Res. 6: 117 (1966)
- 80 Norman, J.C., C.A. Saravis, M.E. Brown, H. McDermott jr.
Immunochemical observations in clinical heterologous (xenogeneic) liver perfusions.
Surg. 60: 179 (1966)

- 81 Norman, J.C., V.H. Corelli, W.G. Hardison, W.V. McDermott jr.
Experimental studies related to clinical xenogeneic liver perfusions.
Transplantation 5: 809 (1967)
- 82 Nyiri, W.
Experimentelle Untersuchungen über gekreuzte Bluttransfusion bei Urämie.
Arch. exper. Path. Pharmacol. 116: 117 (1926)
- 83 Otto, J.J., C.J. Pender, J.H. Cleary, D.M. Sensenig, C.S. Welch
The use of a donor liver in experimental animals with elevated blood ammonia.
Surg. 43: 301 (1958)
- 84 Paquet, K.J., J. Cerny, P. Eckert, R. Hillebrand, H. Bräun
Erfahrungen mit dem extracorporalen temporären Leberersatz durch "biologische" Perfusion einer isolierten Leber mit Spenderblut.
Bruns' Beitr. klin. Chir. 217: 171 (1969)
- 85 Paquet, K.J., J. Cerny, W. Wessel, P. Eckert, J. Bensch
Zur Entstehung und Lokalisation des intrahepatischen Blocks bei der isolierten heterologen Leberperfusion.
Bruns' Beitr. klin. Chir. 216: 453 (1968)

- 86 Parbhoo, S.P., L.J. Chalstrey, A.R.H. Jowers
Technique of extracorporeal porcine liver perfusion
in the treatment of acute liver failure.
4. World-Kongress of Gastroenterology, Kopenhagen 1970,
Abstracts p. 70
- 87 Pavone-Macaluso, M., R.W. Alexander, R.B. Geering,
P.M. Galletti
Parabiotic dialysis.
Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs 10: 285 (1964)
- 88 Pirola, R.C., J.M. Ham, R.G. Elmslie
Exchange transfusion and liver perfusion in the
treatment of acute hepatic coma.
Med. J. Aust. I: 891 (1968)
- 89 Preisig, R., V. Bonifas, H. Cottier
Die Behandlung der fulminanten Virushepatitis mit
Austauschtransfusionen. Ein Modellversuch.
Schweiz. med. Wschr. 97: 1373 (1967)
- 90 Romer, J.F., W.J. Kennell, J.E. Rood jr., J.C. Darin
Ex vivo perfusion of cadaver livers.
Surg. Forum 18: 370 (1967)
- 91 Ruffo, A., P. Rossotto, G. Motta, P. Georgacopulo,
R. Ferraris
Kontinuierliche Perfusion einer isolierten Leber mit
Spenderblut.
Münch. med. Wschr. 109: 620 (1967)

- 92 Salisbury, P.F., A. A. Bolomey, J.H. Miller,
 Cross transfusion.
 III. Clinical experiences with 6 cases.
 Amer. J. Med. Sci. 223: 151 (1952)
- 93 Saunders, S.J
 The treatment of hepatic coma by exchange blood
 transfusion.
 in "The liver" Butterworths, London 1967, p. 289
- 94 Saunders, S. J.
 Exchange transfusion in the treatment of hepatic
 coma.
 in " Möglichkeiten des Leberersatzes "
 München-Berlin-Wien 1970, S. 207
- 95 Saunders, S.J., J. Terblanche, S.C.W. Bosmann,
 G.G. Harrison, R. Walls, R. Hickman, J. Biebuyck,
 D. Dent, S. Pearce, C.N. Barnard
 Acute hepatic coma treated by cross-circulation with
 a baboon and by repeated exchange transfusion.
 Lancet II: 585 (1968)
- 96 Schechter, D.C., Th.F. Nealon, J.H. Gibbon jr.
 A simple extracorporeal device for reducing elevated
 blood ammonia levels.
 Surg. 44: 892 (1958)

- 97 Schleifer, D.
Experimentelle Untersuchungen zur Morphologie und Funktion der isolierten, mit autologem und heterologem Blut perfundierten Leber unter besonderer Berücksichtigung der Reinigung des Blutes von Ikteruskranken.
Langenbecks Arch. Chir. 324: 143 (1969)
- 98 Schmitt, W., G. Lazarus, H. Braun
Die klinische Wertigkeit des kapillären Blutammoniakgehaltes nach oraler Ammoniumbelastung bei Leberkrankheiten mit und ohne portokavale Kollateralkreisläufe.
Med. Welt 21: 1259 (1970)
- 99 Sen, P.K., R.A. Bhalerao, G.P. Parulkar, A.B. Samsi
B.K. Shah, S.G. Kinare
Use of isolated perfused cadaveric liver in the management of hepatic failure.
Surg. 59: 774 (1966)
- 100 Spear, P.W., M. Sass, J.J. Cincinotti
Ammonia levels in transfused blood.
J. Lab. Clin. Med. 48: 702 (1956)
- 101 Starzl, T.E., T.L. Marchioro, K.N. v. Kaulia, G. Hermann, R.S. Brittain, W.R. Waddell
Homotransplantation of the liver in humans.
Surg. Gyn. Obstet. 117: 659 (1963)

- 102 Starzl, T.E., T.L. Marchioro, D.T. Rowlands jr.,
C.H. Kirkpatrick, W.E.D. Wilson, D. Rifkind, W.R.
Waddell
Immunosuppression after experimental and clinical
homotransplantation of the liver.
Ann. Surg. 160: 411 (1964)
- 103 Starzl, T.E., G.C. Groth, L. Brettschneider, J. Penn,
V.A. Fulginiti, J.B. Moon, H. Blanchard, A.J. Martin,
K.A. Porter
Orthotopic homotransplantation of the human liver.
Ann. Surg. 168: 392 (1968)
- 104 Starzl, T.E., K.A. Porter, L. Brettschneider, I. Penn,
P. Bell, C.W. Putnam, R.L. McGuier
Clinical and pathologic observations after
orthotopic transplantation of the human liver.
Surg. Gyn. Obstet. 128: 327 (1969)
- 105 Slapak, M., J.G. Beaudoin, H.M. Lee, M. Hume
Auxiliary liver homotransplantation.
Arch. Surg. 100: 31 (1970)
- 106 Tait, I.B., B. Eiseman
Perfusion dynamics for extracorporeal hepatic assist.
Arch. Surg. 93: 131 (1966)
- 107 Tauber, J., H. Stirnemann, H. Bucher, R. Vogel,
H. Strebel, U. Bucher, R. Preisig
Die Leistungsfähigkeit der isoliert perfundierten
Schweineleber.
Schweiz. med. Wschr. 99: 590 (1969)

- 108 Trey, C., D.G. Burns, S.J. Saunders
Treatment of hepatic coma by exchange blood trans-
fusions.
N. Engl. J. Med. 274: 473 (1966)
- 109 Tytgat, G., J. Piessens, D. Collen, J. de Groote
Experience with exchange transfusion in the treat-
ment of hepatic coma.
- 110 Vang, J.O., Th. Drapanas
Metabolism of lactic acid and keto acids by the
isolated perfused calf liver:
Evaluation of perfusion via portal vein and hepatic
artery.
Ann. Surg. 163:545 (1966)
- 111 Vang, J.O., R. Zemle, M. Davidson, Th. Drapanas
Citrate metabolism by the isolated perfused liver.
Arch. Surg. 93: 142 (1966)
- 112 Watts, J.M.
The treatment of acute hepatic failure by porcine
liver perfusion.
Med. J. Austr. I: 324 (1969)
- 113 Watts, J.M., M.C. Douglas, H.A.F. Dudley, F.W. Gurr,
J.A. Owen
Heterologous liver perfusion in acute hepatic failure.
Brit. Med. J. II: 341 (1967)

114

Winch, J.

Vortrag auf dem 5. Meeting of the European Association for the study of the liver.

Bern 1970

115

van Wyk, J., I. Tait, B. Eiseman

Function of livers left for graded periods within the cadaver.

Surg. 58: 374 (1965)

116

van Wyk, J., D.S. Liem, B. Eiseman

Function of cadaver liver.

Surg. 58: 120 (1965)

117

Zacarias, J.S., J.G. Huidobro

Exchange transfusion in the treatment of hepatic coma.

J. Pediatrics 71: 660 (1967)

118

Zimmermann, G., O. Boeckl

Unterschiede bei autologer, homologer und heterologer Leberperfusion.

in "Möglichkeiten des Leberersatzes"

München-Berlin-Wien 1970, S. 155

119

Zimmermann, W.E., B. Fischer, W. Braun, K.H. Rehfeld, P. Bannert, R. Dierkesmann, D. Seitz

Untersuchungen bei isolierter Leberperfusion, Organkonservierung und temporärem extrakorporalen Leberersatz beim Menschen.

in "Möglichkeiten des Leberersatzes" München-Berlin-Wien 1970, S 162

Zuidema, G.D., D. Cullen, R.S. Kowalczyk,
E.F. Wolfman

Blood ammonia reduction by potassium exchange
resin.

Arch. Surg. 81: 296 (1963)

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990